

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE — N° 172

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES

Propriétés Antitumorales

des Extraits de Capsules Surrénales

vis-à-vis de l'épithélioma greffé de la souris blanche

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

LE VENDREDI 24 JUIN 1932

PAR

Francisque DENARD

Né à Lyon, le 20 Mai 1904



LYON

IMPRIMERIES REUNIES

33-35. rue Rachais, 33-35

1932

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES PROPRIÉTÉS ANTITUMORALES
DES EXTRAITS DE CAPSULES SURRÉNALES

VIS-A-VIS DE L'ÉPITHELIOMA GREFFÉ
DE LA SOURIS BLANCHE.

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE — N° 172

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES

Propriétés Antitumorales

des Extraits de Capsules Surrénales

vis-à-vis de l'épithélioma greffé de la souris blanche

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

LE VENDREDI 24 JUIN 1932

PAR

Francisque DENARD

Né à Lyon, le 20 Mai 1904



LYON
IMPRIMERIES REUNIES

33-35. rue Rachais, 33-35

—
1932

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire.	M. L. HUGOUNENQ.
Doyen.	M. J. LÉPINE.
Assesseur	M. ROLLET.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. CAZENEUVE, ROQUE, LANNOIS, HUGOUNENQ, ROCHET, BARRAL.

PROFESSEURS

Cliniques médicales.	} MM. PIC.
Cliniques chirurgicales.	
Clinique obstétricale et Accouchements	PAVIOT.
Clinique ophtalmologique	TIXIER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	BERARD.
Clinique neurologique et psychiatrique	VORON.
Clinique des maladies des enfants.	ROLLET.
Clinique des maladies des femmes	NICOLAS.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.	LEPINE (J.)
Clinique des maladies des voies urinaires.	MOURIQUAND.
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie	VILLARD.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	COLLET.
Physique biologique, radiologie et physiothérapie	GAYET
Chimie biologique et médicale	NOVÉ-JOSSERAND.
Chimie organique et Toxicologie	COURMONT
Matière médicale et Botanique	CLUZET.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.	FLORENCE
Anatomie.	MOREL.
Histologie	MANCEAU.
Physiologie.	GUIART.
Pathologie externe.	LATARJET.
Pathologie interne	POLICARD.
Pathologie et Thérapeutique générales.	DOYON.
Anatomie pathologique.	LERICHE
Chirurgie opératoire.	FROMENT
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie.	CADE.
Médecine légale	FAVRE.
Hygiène.	PATEL.
Thérapeutique	ARLOING (F.).
Pharmacie et Pharmacologie	ETIENNE MARTIN.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	ROCHAIX
	SAVY
	LEULIER.
	PIÉRY.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Propédeutique de gynécologie.	MM. CONDAMIN.
— d'Anatomie médico-chirurgicale	THEVENOT (Léo—
— d'Embryologie.	NOEL u

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Puériculture et hygiène de la première enfance	MM. RHENTER.
Chirurgie expérimentale.	TAVERNIER.
Applications du radium.	NOGIER
Stomatologie.	TELLIER.

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	DUFOURT	GATÉ.	EPARVIER
RHENTER.	DEVIC	BERNHEIM	GUILLEMINET
MAZEL.	GABRIELLE	DECHAUME	MORENAS
SAN IY.	MARTIN (Joseph	POLLOSSON	REBATTU Ch.
CHALIER (André)	ROCHET (Ph.).	CHAMBON	REVOL Ch.
CHALIER (Joseph)	WERTHEIMER	CIBERT	SEDALLIAN Ch.
DUMAS			ENSELME Ch.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. A. MOREL, *Président*.
MM. F. ABLOING, A. LEULIER, M. CHAMBON.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.



A MA MERE

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A mon Maître et Président de Thèse,

MONSIEUR LE PROFESSEUR ALBERT MOREL,
Professeur de Chimie organique et de Toxicologie,
Chevalier de la Légion d'honneur.

A mes juges:

MONSIEUR LE PROFESSEUR FERNAND ARLOING,
Professeur de médecine expérimentale et Bactériologie,
Chevalier de la Légion d'honneur.

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. LEULIER,
Professeur de Pharmacie et de Pharmacologie,
Chevalier de la Légion d'honneur.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. CHAMBON,
Pharmacien-chef de l'Hôtel-Dieu

A LA MÉMOIRE DU PROFESSEUR BRETIN.

A MES MAÎTRES DE L'ENSEIGNEMENT PHARMACEUTIQUE.

A MES MAÎTRES DE L'ENSEIGNEMENT MÉDICAL.

Meis et amicis.

AVANT-PROPOS

A l'époque où M. le Professeur Arloing et M. le Docteur Josserand sont venus demander à notre maître, le Professeur Morel, de collaborer avec eux pour arriver à la séparation des propriétés toxiques des propriétés antitumorales, qu'ils avaient réussi à mettre en évidence dans les capsules surrénales, nous étions Assistant du Laboratoire de chimie organique et toxicologie, et notre Maître, nous a chargé d'effectuer un certain nombre de préparations et de déterminations chimiques nécessitées par ces recherches, d'un ordre tout à fait nouveau pour nous, mais dont le puissant intérêt nous a, de suite, captivé.

Sous sa direction, tandis que MM. Arloing, Josserand et Charachon contrôlaient expérimentalement les activités sur les souris blanches auxquelles ils avaient greffé de la tumeur (épithélioma de la mamelle, souche Caspari), nous avons préparé des substances de nature protéique, par précipitation fractionnée des extraits de capsules surrénales provenant de lapins ou de rats, neutres ou ayant eux-mêmes reçu préalablement des injections de la tumeur provenant aussi de veaux neutres, abattus pour la boucherie, substances qui étaient éluées dans un excipient convenable pour en permettre l'injection sous-cutanée.

Parce que la question semblait, d'après d'autres travaux, présenter un intérêt, nous avons essayé d'obtenir des produits riches en glutathion, d'origine surrénalienne, ce qui nous a entraîné à étudier la répartition de cette substance dans les différentes zones des capsules.

L'ensemble des recherches chimiques, auxquelles nous avons ainsi apporté notre contribution, est exposé dans ce travail, ainsi que le résumé des résultats expérimentaux, qu'elles ont permis d'obtenir.

En soumettant ce travail à l'appréciation de nos Maîtres, qu'il nous soit permis d'exprimer notre gratitude à tous ceux qui nous ont accordé leur appui bienveillant et qui nous ont montré, en maintes circonstances, tout l'intérêt qu'ils nous portent.

Tout d'abord, il est pour nous un devoir auquel nous ne saurions manquer : c'est d'adresser un hommage ému à la mémoire du Professeur Joseph Teissier qui, après nous avoir sauvé lors de l'épidémie particulièrement meurtrière de 1918 avec toute la science et le dévouement qui le caractérisaient, a bien voulu nous présenter à notre Maître, M. le Professeur Morel. Nous prions M^{me} Teissier de trouver ici le témoignage respectueux d'un souvenir reconnaissant.

Que M. le Professeur Morel veuille bien accepter l'assurance de notre profonde gratitude pour tout ce que nous lui devons. Ce Maître dévoué nous a accueilli dans son laboratoire dès le début de nos études. Nous donnant lui-même l'exemple, à son contact quotidien, il nous a permis de nous former — bien imparfaitement de par notre faute — aux méthodes de la chimie organique et de la biologie.

Ainsi que nous le disions tout à l'heure, il nous a fait l'honneur de nous attacher plus intimement à ses travaux en nous faisant agréer en qualité de Préparateur de recherches. Par la suite, il nous a encore donné une preuve d'intérêt en nous dirigeant vers une carrière nou-

velle. Puisse-t-il être persuadé de notre profond et sincère attachement.

Notre gratitude va aussi à M. le Professeur Arloing qui a bien voulu nous permettre de présenter ce travail — fruit de sa collaboration avec M. le Professeur Morel — devant nos juges. Nous n'oublierons pas sa cordialité coutumière ni la justesse de ses observations.

M. le Professeur Leulier nous a toujours témoigné, au cours de nos études, beaucoup d'intérêt, ce dont nous lui sommes infiniment reconnaissant.

Nous le remercions de la nouvelle preuve de bienveillance qu'il nous donne en acceptant d'être notre juge aujourd'hui.

M. le Professeur agrégé Marc Chambon s'est montré pour nous et en maintes circonstances plus qu'un maître : un véritable ami. C'est pourquoi nous le prions de croire à toute notre affection.

Nous garderons le souvenir de l'accueil que nos Maîtres nous ont toujours réservé. Ils nous ont prodigué sans compter les conseils précieux de leur expérience. Notre reconnaissance va tout particulièrement à MM. les Professeurs A. Policard, G. Florence, Rochaix, Manceau; à M. Boulud; à MM. les Docteurs Fouillouze, Chanoz, Couture, Enselme, M^{lle} Pallot, M^{me} Vincent; MM. le Docteur Gallois, à notre ami Revol, chefs des travaux à la Faculté, que nous assurons de notre indéfectible attachement.

Nous n'oublierons pas tout ce que nous devons à MM. les Docteurs A. Josserand et Charachon; à notre camarade Badinand, pharmacien des Hôpitaux, Assistant du Laboratoire de chimie organique et de toxicô-

logie, qui nous ont aidé dans nos recherches. De tous nous conserverons un inoubliable souvenir.

Nous n'oublierons pas non plus M. le Docteur Bost, docteur en pharmacie, docteur ès Sciences, vieil ami, fidèle au souvenir de notre père. Il nous a dirigé au cours de nos études et nous le prions de croire ici à notre entier dévouement et à notre profonde amitié.

M. le Docteur Beuf, médecin de l'Hôpital de Villefranche, a été notre premier Maître de Clinique. Avec science, il a su diriger nos premiers pas dans les études médicales. Puisse-t-il trouver ici la récompense de tant d'efforts.

Il nous aurait été particulièrement agréable de faire l'hommage de notre thèse à M. Maurice Miguët, Docteur en Pharmacie, Chevalier de la Légion d'Honneur, Administrateur-Directeur général des Etablissements Jacquemaire. Un sort cruel nous en a empêché, que Madame Maurice Miguët et sa famille veuillent bien croire à la grande part que nous prenons à leur deuil.

Nous assurons MM. Gollion, Ingénieur des Mines, Chevalier de la Légion d'Honneur, Président du Conseil d'Administration des Etablissements Jacquemaire, M. Buchet, Directeur Commercial et Thozet, Directeur Technique de notre entier dévouement.

Enfin, nous ne saurions passer sous silence les preuves d'amitié données par nos anciens camarades de laboratoire : M. Denoyel, docteur en pharmacie ; MM. les Pharmaciens-capitaines Siméon, Préceptis ; MM. les Pharmaciens-lieutenants Adam, Berthelot, sans oublier notre vieux camarade Agnès.

INTRODUCTION

Depuis quelques années, des essais sont tentés pour orienter la thérapeutique des tumeurs dans une voie nouvelle, celle de l'organothérapie.

A Lyon même, MM. F. Arloing, A. Morel, A. Josserrand, aidés de plusieurs collaborateurs, poursuivent des recherches sur cette question capitale.

Les essais d'organothérapie des cancers reposent sur le fait que certaines tumeurs se développent très rapidement, d'autres lentement, certaines même se résorbent, fait rapproché de l'immunité inflexible d'une espèce animale en face de la greffe d'un néoplasme se développant sur une espèce différente ; il était donc naturel de supposer qu'il existait là une influence humorale endocrinienne plus ou moins inhibitrice.

La première glande à laquelle se sont adressés MM. Arloing, A. Josserrand et J. Charachon, fut le corps thyroïde, en raison des travaux de Coulaud, qui obtint des sérums cytotoxiques en partant du cancer thyroïdien.

Ils ont donc essayé de greffer sur la souris porteuse d'épithélioma de la mamelle, lui-même greffé, des corps thyroïdes de lapin, à raison d'un demi-corps thyroïde par souris en se servant tout d'abord de glandes neutres, puis de glandes d'animaux préparés par deux injections faites à 8 jours d'intervalle, d'une suspension dans l'eau physiologique, de cancer de souris (carcinome) broyé (2).

Ces auteurs se sont ensuite adressés aux capsules surrénales. Une souris, en plein développement cancéreux, reçut, par greffe sous-cutanée, une demi-surrénale de lapin, préparé par des injections de pulpe de tumeur. Pendant 3 semaines, ils purent constater un arrêt complet dans l'évolution de la tumeur. L'animal sacrifié livra une masse néoplasique complètement nécrosée. L'expérience fut répétée sur un lot de souris.

Les lapins, fournisseurs de surrénales, étaient préparés par 3 injections sous-cutanées, faites à trois jours de distance, la première de 0 gr. 30 et les deux autres de 0 gr. 80, de tumeur de souris broyée au mortier dans 5 cc. d'eau physiologique. Les animaux étaient sacrifiés 7 jours après la dernière injection. Une demi-surrénale de ces animaux préparés était, dès le sacrifice, immédiatement insérée sous la peau de la région dorsale des souris cancéreuses (3).

Dans ces conditions, les souris traitées évoluaient toutes plus lentement que les témoins, avec d'ailleurs une grande variabilité ; une résorption complète et définitive de la tumeur a pu être observée ; dans d'autres cas, cette résorption était suivie d'une nouvelle poussée néoplasique après un long intervalle d'arrêt dans l'évolution. Parfois, enfin, la courbe ascendante n'était que légèrement modifiée, une ébauche de plateau s'observait entre le 2^e et le 7^e jour, après l'insertion de la surrénale, puis la tumeur repartait avec une marche rapide, suivant le même rythme que les témoins.

En présence du succès obtenu dans cette expérience, MM. F. Arloing, A. Josserand et J. Charachon ont cherché à le rendre plus complet en augmentant la durée de pré-

paration des lapins, qui furent sacrifiés non plus seulement 8 jours, mais 20 à 25 jours après la dernière injection de tumeur broyée.

Dans ces conditions, les surrénales apparurent doublées de volume, avec une teinte blanchâtre particulière. A la section, ces glandes étaient diffluentes. La zone corticale, énorme, était devenue pâle et grasseuse, tandis que la médullaire se trouvait réduite à une trace linéaire. Ces constatations sont à rapprocher de celle que Sokoloff avait déjà faite, ainsi que nous le verrons plus haut, sur les surrénales d'animaux cancéreux. Ces glandes ayant été insérées sur un nouveau lot de souris cancéreuses, loin de ralentir la croissance néoplasique, la favorisaient au contraire.

Nous avons constaté, au cours de nos expériences personnelles, que les surrénales d'animaux parasités — en particulier chez les lapins coccidieux — présentaient des signes de dégénérescence identiques à ceux signalés plus haut et que les résultats expérimentaux devenaient nettement défavorables.

Retournant à leurs conditions initiales d'expérience, F. Arloing, A. Josserand et J. Charachon ont, à nouveau, enregistré le même ralentissement du développement tumoral.

Ayant ultérieurement dépouillé des surrénales de leur médullaire, ils ont reproduit les mêmes résultats, ce qui les a amenés à penser que la propriété inhibitrice résidait dans la partie corticale des glandes. Ils ont vu, enfin, que l'injection de la tumeur broyée paraissait conférer aux surrénales des lapins des propriétés plus actives que la greffe d'un fragment d'épithélioma.

Pensant avoir une base expérimentale suffisamment établie, ils ont alors tenté l'emploi d'extraits glycéринés de surrénales d'animaux préparés (4).

Grâce à ces extraits, il a été possible de retarder, dans leur évolution, les tumeurs traitées, en les fixant dans leur marche pendant un certain temps. Mais, à un moment donné, les néoplasies repartaient en une marche rapide. Jamais les extraits glycéринés n'ont amené de résorption totale, ainsi que l'avaient fait précédemment les greffes de glandes d'animaux préparés.

De plus, un facteur nouveau est apparu : la toxicité du produit qui se manifeste à partir d'une certaine dose correspondant généralement à 1/8^e de surrénale préparée. Les souris injectées présentaient rapidement des accidents aigus : torpeur, hérisssement des poils, hématurie, puis paralysie progressive frappant d'abord le train postérieur, puis les pattes antérieures. La mort survenait plus ou moins rapidement après une phase convulsive.

Les surrénales de lapins neutres produisaient aussi ces mêmes accidents, pourtant avec moins de brusquerie et seulement si l'on doublait la dose d'extrait utilisé (5).

Dans ces conditions, il devenait tout naturel de se demander s'il ne s'agissait pas là de chocs protéiques et si les freinages observés ne ressortissaient pas tout simplement à des phénomènes de cet ordre.

En réalité, l'augmentation de la dose d'extrait de surrénale neutre jusqu'à l'obtention d'effet juxta-toxique, ne donne pas de résultats antinéoplasiques comparables à ceux obtenus avec les glandes préparées. L'action antitumorale paraît donc bien distincte d'un choc protéique banal, sans que l'on puisse, pourtant, affirmer que ce

choc n'existe pas avec les faibles doses et ne constitue pas un facteur important favorable, sinon exclusif, de l'action antitumorale.

M. F. Arloing et ses collaborateurs ont alors mis en œuvre divers moyens pour tenter de dissocier les deux facteurs antinéoplasique et toxique. Ils ont utilisé successivement : les extraits précédents chauffés à diverses températures, puis centrifugés ; l'adjonction de sels de calcium ou de citrate de soude à ces extraits ; enfin, la filtration sur bougies Chamberland. Aucune de ces méthodes n'a donné de résultat intéressant.

Pourtant, au cours de ces essais, ils ont obtenu un résultat positif en adjoignant une faible quantité de gluconate de calcium à des extraits totaux de cortico-surrénale de veau neutre. Une série de tumeurs furent efficacement freinées par ce produit.

N'ayant pu reproduire ultérieurement ce résultat et les extraits de surrénales préparées ne s'étant pas montrés activés par ces mêmes doses de sels de calcium, ils ont, au moins provisoirement, abandonné cette voie.

Reprenant les travaux de Sokoloff, qui — ainsi que nous le verrons — associait à ses extraits surrénaux un produit à base de fer : le « Corferrol », ils ont essayé d'injecter, en même temps que leur extrait une solution de citrate double de fer et de sodium, sans aboutir à des résultats meilleurs, avec pourtant, cette différence, que les effets étaient plus constants (6).

C'est alors que MM. F. Arloing et A. Josserand ont demandé à M. A. Morel de les aider à isoler, dans les glandes préparées, un principe actif, ce qui semblait présenter de nombreuses difficultés.

Avec lui, ils ont vu (7) que le principe actif pouvait être entraîné par la portion des matières protéiques les plus acides. Une expérience, tentée dans ces conditions, fut très démonstrative. Ayant sélectionné 4 tumeurs de développements exactement superposables, ils ont pu, par des injections quotidiennes, enrayer leur évolution pendant plusieurs jours, après quoi, dans un cas, la greffe néoplasique se reprit à se développer rapidement, tandis qu'une autre tumeur, après une faible courbe de croissance, devenait histologiquement squirrheuse. Des expériences de contrôle entreprises ne furent pas toutes confirmatives. Des essais cliniques (8), après un début encourageant, n'aboutirent à aucun résultat probant.

Parallèlement à ces recherches, de nombreux travaux relatifs à des tentatives d'organothérapie antinéoplasique ont été publiés dans divers pays.

Boris Sokoloff, en 1929, étudiant les capsules surrénales d'animaux porteurs de tumeurs, remarqua que ces glandes subissent des modifications macroscopiques et histologiques sous l'influence de l'affection cancéreuse (18, 19, 20, 21).

Dans une première phase, il se produit une suractivité du cortex surrénal ; tandis que, dans une deuxième phase, les glandes « dégénéreraient » et subiraient une « transformation graisseuse » en même temps qu'elles augmenteraient considérablement de volume. Elles perdraient alors toute activité.

Ces constatations amenèrent Boris Sokoloff à rechercher l'action des extraits surrénaux sur le développement des tumeurs expérimentales.

N'ayant pas obtenu de résultats nets avec les surré-

nales neutres, il chercha à les activer par l'adjonction d'un sel de fer, produit qu'il désigna sous le nom de « Corferrol » et dont la composition n'a pas été divulguée. D'après lui, le fer ainsi combiné avec un extrait de glandes surrénales régularise le rapport nucléoplasmatique des tumeurs. Cytologiquement, il se produirait une résorption d'une partie du noyau et tout le protoplasme cellulaire se remplit de mitochondries dans lesquelles on peut constater la présence de fer. Le fer employé sans extrait de surrénales est sans action. Pratiquant les injections de « Corferrol » dans les tumeurs mêmes, Sokoloff réussit à en obtenir, presque à coup sûr, la sclérose puis la résorption totale.

Indépendamment de Sokoloff, J. Flaks (29) a vu que « la glande surrénale totale, greffée en même temps qu'un sarcome dans les muscles de la cuisse, produit une action caractéristique d'arrêt sur le développement de la cellule néoplasique ». C'est ainsi que sur 52 animaux greffés, la tumeur ne se développa pas dans 45 cas et que la croissance tumorale fut considérablement retardée dans les 7 derniers cas.

Des essais, faits avec la rate, le foie, le thymus, le corps jaune et le testicule, se sont montrés — par contre — sans aucune influence sur le développement des néoplasmes.

Plus récemment, Hirsch (34, 35, 36, 37), étudiant le rôle du glutathion dans la croissance cancéreuse, a vu que des injections de ce produit ralentissent considérablement le développement du néoplasme. Pour lui, les animaux jeunes ont une teneur en glutathion réduit, élevée dans les tissus en croissance et une teneur faible dans le sang. Au fur et à mesure que la croissance s'opère, le taux du glu-

tathion baisse dans les tissus et augmente dans le sang. La croissance s'arrête lorsqu'un équilibre stable est atteint. Hirsch démontre qu'une irritation chronique sur un tissu y fait remonter le glutathion réduit pendant que la glutathionémie s'abaisse. Ainsi le mécanisme des formations néoplasiques recevrait une explication plausible. Pour empêcher la prolifération cellulaire résultant de cette rupture d'équilibre, Hirsch injecte dans le sang un « extrait cortico-surrénal », riche en glutathion, et du fer colloïdal.

Mais, comme Hirsch insiste sur l'origine du glutathion employé en injections qui doit être « d'origine surrénale » et « non purifié », sous peine d'échec, on semble être autorisé à se demander si le produit actif est vraiment le glutathion ou s'il ne s'agit pas d'un autre facteur l'accompagnant. Le rôle du glutathion se réduirait à celui de support ou d'activant d'un principe actif, agissant à dose extrêmement faible.

Coffey et Humber (26) ont tenté des essais cliniques favorables sur lesquels les détails nous manquent.

Si les auteurs précédents ont réussi à arrêter le développement des néoformations en partant de préparations de surrénales, il en est, par contre, de nombreux autres qui ont obtenu des résultats variables, voire même négatifs.

William H. Woglom (70), au moyen d'extraits de surrénales d'animaux préparés, n'a pas constaté d'influence inhibitrice. Kanematsu Sugiura (43), au moyen d'extraits cortico-surrénaux tirés de glandes neutres, n'a pas observé l'effet freinateur. Mêmes échecs de Shigemitsu Itami et Ellice Mc Donald (66) en employant un extrait

particulier, l' « hormone corticale », isolé par Swingle et Pfiffner. Enfin, N.-C. Laclau (46), après décapsulation chez des rats cancérisés, n'a pas noté de différence entre l'évolution cancéreuse chez les animaux opérés et leurs témoins.

Par contre, Hans Auler et W. Rubenow (33), vérifiant l'action de la cortico-surrénale sur le développement des tumeurs, en ont injecté des extraits à des rats et à des souris greffés, soit avec du sarcome, soit avec du carcinome. Dans un certain nombre de cas, il n'y eut pas de résultat, tandis que chez un nombre appréciable d'animaux la tumeur ne s'est développée qu'avec une extrême lenteur et, chez quelques-uns, la guérison survint incontestablement.

Roffo (64), étudiant l'action des extraits surrénaux sur la marche du cancer expérimental, a fait des constatations du plus haut intérêt. Il a montré que la variabilité des résultats paraissait due à la fraction des extraits employés. En effet, depuis longtemps, il a insisté sur le rôle favorisant de certains lipoides et, en particulier, de la cholestérine surrénale, sur la marche des néoplasmes. Enfin, il a, plus récemment, démontré que l'adrénaline possédait, elle aussi, un pouvoir favorisant. Par contre, les protéines seules, extraites de la corticale ou de la médullaire, lui ont donné, dans les deux cas, des ralentissements très nets du développement des tumeurs en même temps qu'un pourcentage plus faible du développement des greffes.

Ces ralentissements sont considérables puisqu'ils oscillent entre le $\frac{1}{3}$ et le $\frac{1}{4}$ de la croissance des témoins.

Recherches portant sur d'autres organes que les glandes surrénales

En 1928, Ishiwara établissait la possibilité d'immuniser le lapin contre son propre sarcome par 10 à 20 injections intra-veineuses de 50 milligrammes d'une suspension de tumeur fraîche de Katô, faites à raison d'une tous les deux jours.

Pierre Girard, Edouard Peyre et Hélène Boursaus (32) virent que le tissu cancéreux de greffes provoque une intense élaboration d'anticorps chez un animal d'une autre espèce. Le sérum de ce dernier possède un pouvoir sensibilisateur très élevé, non seulement vis-à-vis d'antigène extrait du tissu cancéreux, mais aussi vis-à-vis d'antigènes extraits d'autres tissus.

Gaëtani (31), en traitant des souris cancéreuses par des extraits de rate de lapin, vit que les résultats obtenus avec des rates d'animaux traités différaient de ceux donnés par les animaux neutres. L'abaissement de la courbe de croissance est plus net avec l'animal préparé qu'avec l'animal neutre. Enfin, l'action est encore plus marquée et peut aller jusqu'à la guérison lorsque le porteur de la greffe est traité avec de la rate de lapin préparé avec un adénocarcinome de souris.

MM. F. Arloing et A. Josserand avaient déjà fait la même remarque à propos du foie et de la rate.

P. Mendeleeff (51, 52, 55, 56) isola, du sarcome de souris, deux groupes de produits, les uns favorisants, les autres inhibiteurs, pour la croissance de cette tumeur. Du tissu de rat normal, l'auteur ne put isoler que des substances favorisantes et aucun produit inhibiteur (53, 54).

Il démontrait ainsi que les substances empêchantes du développement néoplasique n'existent que dans le tissu tumoral lui-même.

Ainsi, P. Mandeleeff, sans passer par l'intermédiaire d'un organe préparé, révèle, dans le tissu néoplasique lui-même, l'existence d'une substance qui, injectée à l'animal porteur du même cancer, en ralentit l'évolution.

Rubens-Duval (65) a mis à profit ce rôle antigénique des extraits de tumeur pour tenter de stimuler les réactions de défense propre de l'organisme cancéreux lui-même. Cette « protéinothérapie spécifique » aurait permis des guérisons.

J. Maisin, J. Pourbaix et E. Picard (48, 49) ont essayé diverses organothérapies par voies buccale et sous-cutanées. Ils ont vu qu'au moyen d'extraits éthérés de divers organes (rate, thymus, foie, cerveau), injectés par voie sous-cutanée, il est possible d'influencer, d'une façon favorable, l'évolution des tumeurs malignes chez l'animal et chez l'homme.

Le but de notre travail est de relater les tentatives faites dans les laboratoires de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon, qui ont bien voulu accepter notre collaboration, pour rechercher s'il est possible d'extraire des capsules surrénales d'animaux neutres ou préparés, des facteurs agissant sur le développement des tumeurs.

CHAPITRE PREMIER

Nature de la tumeur choisie pour apprécier l'action des agents frénateurs extraits des capsules surrénales.

Les expériences auxquelles nous avons prêté notre concours ont porté sur l'adéno-carcinome spontané de la souris blanche, tumeur généralement employée dans les laboratoires pour étudier expérimentalement les modifications que l'on peut apporter à la courbe de croissance néoplasique, et bien connue depuis les travaux de Morau et de Jensen, qui en réussirent les premiers la greffe.

Nous avons eu recours à la souche d'adéno-carcinome transmissible du Professeur Caspari, de Francfort, déjà employée par M.M F. Arloing et A. Josserand au cours de leurs premières expériences et auxquels elle fut remise par le docteur de Coulon, de Lausanne.

Le carcinome est caractérisé par la disposition alvéolaire des masses épithéliales. Les cellules épithéliales, déviées du type normal, se répartissent en amas, en nids cellulaires entre les faisceaux du tissu conjonctif, plus ou moins écartés, formant ainsi des alvéoles carcinomateux.

La rapidité de l'évolution de cette tumeur greffée, la constance du type histologique pour une souche cellulaire donnée, sa structure extrêmement molle, très peu riche en stroma — permettant de pouvoir présenter toute une

gamme de modifications dans le sens de la sclérose — rendaient facile l'appréciation des modifications de croissance.

Le carcinome se présente au début comme une nodosité dure, intimement adhérente au tissu au sein duquel elle a été greffée. Il en résulte que la tumeur n'est pas nettement délimitable par le palper. D'ailleurs, la prolifération néoplasique réelle dépasse toujours les limites apparentes de la tumeur qui s'accroît par la multiplication de ses propres éléments et par les progrès de la transformation cancéreuse de la périphérie. D'autre part, les lésions dégénératives ne tardent pas à intervenir, qui ont pour conséquences des pertes de substance ou des mortifications.

La peau mincie, pelée, distendue, rougit et s'ulcère, puis l'ulcération s'étend par les lésions dégénératives du tissu.

L'étude du développement du carcinome aux dépens d'une glande (notre souche dérive de l'adéno-carcinome spontané de la mamelle de la souris blanche) montre bien que les cellules cancéreuses dérivent de l'épithélium glandulaire, le tissu constituant donnant seulement le stroma fibreux.

Voici, en effet, ce qu'on observe « dans la zone d'accroissement d'un carcinome mammaire, là où l'envahissement de nouveaux lobules glandulaires reproduit les phénomènes du développement initial : Dans un premier stade, on observe une multiplication de l'épithélium à la fois dans les canaux galactophores, où il se dispose sur plusieurs couches, et du côté des acini, où l'épithélium ne tarde pas à combler complètement les culs-de-sac, tout en demeurant encore petit et cubique. En même temps, le

tissu conjonctif prolifère devient plus riche en cellules et s'infiltré de leucocytes.

« Dans un second stade, les cellules épithéliales s'hypertrophient, deviennent très volumineuses, distendent et rompent la paroi propre du cul-de-sac. » « Alors se produit l'infiltration des nids cellulaires dans les tissus voisins. La prolifération épithéliale, fait primitif et essentiel, est suivie par l'infiltration épithéliale laquelle aboutit à la structure alvéolaire.

« Tous les carcinomes sont constitués par une charpente conjonctive qui forme des alvéoles ou des cavités de dimensions ou de formes variées, au sein desquelles se trouvent les amas de cellules épithéliales cancéreuses (E. Forgues, 30) ».

Technique suivie pour la greffe des souris

La greffe se faisait par introduction directe, à l'aide d'un trocart, dans le tissu cellulaire sous-cutané, de la région dorsale, de fragments de tumeur prélevés sur une autre souris sacrifiée au moment même. On choisissait de jeunes souris adultes neuves, recevant une nourriture abondantes composée de carottes, grains de blé, pain.

L'observation du développement de ces greffes nous a montré de grandes inégalités dans leur évolution, selon les individus employés, inégalités pouvant même aller parfois jusqu'à la résorption totale et rapide de la greffe. Ainsi, avons-nous dû, pour chaque expérience, sélectionner sur un lot d'animaux greffés à la même date, des sujets présentant des tumeurs à développements rigoureusement superposables, contrôlés à des intervalles rapprochés.

Appréciation et mensuration du développement des tumeurs.

La mensuration des tumeurs se faisait, selon la technique de MM. Arloing et Josserand, dès que celles-ci commençaient à devenir perceptibles à la vue, c'est-à-dire un peu moins d'une semaine environ après l'inoculation à l'animal.

L'opération était des plus simples : on mesurait le plus grand et le plus petit diamètre. Les chiffres trouvés, exprimés en millimètres, étaient additionnés et on prenait la moyenne de cette somme. En général, les mensurations étaient quotidiennes. L'accroissement s'obtenait en retranchant du nombre trouvé le nombre trouvé le jour précédent.

On portait chaque jour la moyenne des deux diamètres en abscisse sur un axe vertical, les jours étant portés en ordonnée. En joignant les différents points, on obtenait le graphique de croissance de la tumeur, constitué le plus souvent par une droite. Pour chaque expérience, on choisissait des tumeurs ayant la même rapidité de croissance.

Pour la mensuration des tumeurs, MM. F. Arloing et A. Josserand avaient d'abord songé — pensant avoir ainsi une plus grande précision — à employer un pied-à-coulisse. Malheureusement, il est difficile, avec cet instrument, d'apprécier les limites exactes des tumeurs. De plus, on risque, en exerçant une certaine pression, de trouver des chiffres trop faibles. Seule, la sensibilité tactile permet une exacte appréciation.

L'opérateur, toujours le même, afin d'éviter les erreurs d'interprétations différentes, après avoir soigneusement

délimité par le palper les limites du carcinome, en mesurait les deux diamètres à l'aide d'une pince à extrémité recourbée, plaçant l'index entre les deux branches pour maintenir l'écartement.

On reportait ensuite la dimension trouvée sur une règle graduée en millimètres. Au besoin, on faisait plusieurs déterminations dont on prenait la moyenne.

Enfin, après chaque expérience, on pesait les tumeurs des animaux traités et des animaux témoins.

Il est une objection que l'on peut faire à cette façon d'opérer : le développement tumoral se fait dans l'espace et non dans un seul plan. Il manque donc une troisième dimension, la hauteur de la tumeur. Mais l'appréciation de cette dernière nous a paru impossible. C'est pourquoi nous ne pourrions attacher qu'une valeur relative à nos courbes de croissance. Seule, l'étude des trois éléments : poids de la tumeur, modifications histologiques survenues au cours du traitement et courbe d'accroissement des témoins et des animaux traités, nous permettra de conclure.

CHAPITRE II

Morphologie et structure histologique des capsules surrénales d'animaux normaux.

La position habituelle des capsules surrénales dans l'abdomen n'est pas absolument ce qu'on croyait autrefois; elles sont sises généralement non au-dessus des reins exactement, mais en dedans et en arrière d'eux. Elles sont enfermées dans une gangue fibro-celluleuse, attachés solidement aux organes voisins et souvent même — en particulier chez le veau — noyées dans une masse de graisse péri-vertébrale.

Elles sont malaisées à découvrir, aux autopsies, si on ne les a pas cherchées systématiquement avant d'enlever les reins de leur loge. Leurs connexions les rendent, en effet, indépendantes des reins qu'elles ne suivent pas dans ses déplacements ectopiques.

Un des traits les plus intéressants de la physionomie anatomique de ces organes est la dissemblance et la dissymétrie des surrénales droite et gauche, jamais les deux organes n'ont la même forme, ni les mêmes dimensions, ni le même poids (10).

La glande ou capsule surrénale comprend, en réalité, deux organes embryologiquement, histologiquement et physiologiquement distincts : la partie corticale de la glande, ou glande cortico-surrénale, et la partie médul-

gène, contenant de petites gouttes de graisse, en nombre très variable ;

b) Cellules à graisse labile. — Spongiocytes. Colorée par les réactifs habituels, cette cellule apparaît comme une petite masse à contours plus ou moins polyédriques, avec un gros noyau et un protoplasma qui semble creusé de vacuoles dans toute son étendue, donnant à la cellule l'aspect d'une éponge, d'où le nom de spongiocyte qui lui a été donné (Guieysse).

Lorsqu'on fixe ces cellules avec de l'acide osmique, on constate que ces pseudo-vacuoles sont occupées par d'énormes gouttelettes de graisse qui ne possèdent cependant pas les caractères histochimiques habituels des graisses. Certains réactifs chimiques peuvent amener leur disparition et on constate alors, à leur place, des sortes de vacuoles. L'aspect spongiocytaire, ainsi réalisé, est dû au caractère labile de la graisse contenue dans la cellule (Léon Bernard et Bigart).

c) Cellules à protoplasma dichroïque. — D'autres cellules, de dimensions assez grandes et à contours irréguliers, présentent un protoplasma finement granuleux, avec gros noyau. Après coloration par l'éosine, on remarque qu'elles ne prennent pas toute la teinture avec la même intensité.

Ces cellules peuvent également contenir des gouttelettes graisseuses, des blocs pigmentaires présentant les uns les réactions des pigments hématiques, d'autres celles de lipochromes (Mulon).

Chez le cobaye, chacune des variétés de cellules occupe une zone différente de la corticale, les cellules à graisse indélébile forment la zone glomérulaire, les

spongiocytes occupent la partie externe de la zone fasciculée, la zone interne étant formée de cellules dichroïques graisseuses; enfin, la zone réticulée est formée par des cellules dichroïques à pigment.

Chez l'homme et les mammifères, il existe un mélange beaucoup plus intime de ces diverses variétés de cellules. Seule la zone réticulée est identique à ce qu'elle est chez le cobaye, ne comprenant que des cellules dichroïques chargées de pigment. La zone glomérulaire contient principalement des cellules à graisse indélébile, mais on y rencontre aussi, dans quelques rares éléments, de la graisse labile. Dans la zone fasciculée, on voit, côte à côte, des spongiocytes, des cellules à graisse indélébile, des cellules dichroïques.

Des recherches histochimiques ont permis de reconnaître que ces aspects différents répondent aux stades divers de l'élaboration de plusieurs substances distinctes : « Ce sont d'abord les pigments dont l'origine et le rôle sont mal connus, les autres sont des graisses phosphorées dont la sécrétion semble être l'aboutissement de mutations chimiques complexes qui se traduisent histologiquement par l'aspect dichroïque, la graisse indélébile et la graisse labile. Il est démontré, en effet, que cette graisse labile n'est autre qu'un mélange de lipoïdes dont une lécithine (Léon Bernard et Bigart, Mulon) et de la cholestérine. » (10.)

Substance médullaire

La partie médullaire de la surrénale est une masse parenchymateuse solide, constituée surtout par des cellules adrénalinogènes et percée de sinus sanguins (60).

Les cellules sont disposées en cordons unis, en réseaux. Ceux du centre sont constitués par de petites cellules mal délimitées, tandis que ceux de la région moyenne renferment des cellules plus grosses et paraissant plus actives.

La médullo-surrénale est alimentée par des artères propres et par les terminaisons des vaisseaux de la corticale. Les capillaires se rassemblent en un certain nombre de troncs, origines de la grosse veine centrale de la médullaire.

Les éléments nerveux sont de grosses cellules sympathiques isolées ou groupées en ganglions minuscules, et des nerfs formant des plexus serrés.

Le stroma conjonctif est riche en fibres élastiques, mais il contient aussi des fibres musculaires lisses, reliées aux parois veineuses. Ces dispositifs élastiques et contractiles sont en rapport avec les conditions de l'évacuation du sang veineux hors des sinus de l'organe.

Surrénales de veau

Les glandes surrénales du veau sont réniformes, d'aspect uni, de consistance assez ferme, immédiatement après la mort, de couleur brun rougeâtre. Les glandes droite et gauche sont à peu près semblables.

Leur poids varie peu : 2 gr. 50 à 3 gr. 50. La médullaire paraît légèrement plus lourde que la corticale : poids moyen 1 gr. 40 contre 1 gr. 20 pour la corticale.

D'après Revol, le poids moyen de la glande totale varie entre 2 gr. 06 et 3 gr. 68. Dimensions moyennes : 3 cm 5 en longueur et 2 cm en largeur (62).

La section par le milieu dans le sens de la plus faible

épaisseur, donne deux moitiés symétriques. La région corticale est rouge vif, la médullaire rose.

La structure histologique n'offre rien de particulier.

Surrénales de lapin

Les surrénales de lapins sont plutôt ovoïdes que réni-formes, avec deux faces opposées, aplaties. Leur surface, de couleur rose, est unie et lisse.

Le poids de la glande totale varie entre 8 et 15 centigrammes. Sa grosseur est celle d'une petite graine de ricin.

La section montre une corticale rose pâle et une médullaire d'un rouge plus foncé.

Histologiquement, la zone glomérulaire offre une disposition en amas irréguliers de diverses formes réunis à la zone suivante par des cellules aplaties transversalement, disposées en croissant, dont la concavité regarde la capsule conjonctive et dont les deux extrémités se relèvent et se perdent sous la cellule sous-jacente (Gottschau (17).

Dans la fasciculée, la caractéristique des cellules qui composent les cordons cellulaires convergeant vers la médullaire, est la structure alvéolaire de leur protoplasma.

Les cellules composant la médullaire sont polyédriques, à noyau central. La limite entre médullaire et corticale n'est pas aussi nette que chez les autres animaux. Les cordons de la zone réticulée peuvent pénétrer dans l'intérieur même de la moelle.

Surrénales de rats

Les surrénales de rat sont de la grosseur d'une tête d'épingle de verre. La forme est globuleuse, la surface unie. Le poids moyen oscille entre 11 milligrammes et 14 milligrammes.

Histologiquement, la zone glomérulaire offre une disposition en amas irréguliers de formes diverses, disposées sur une petite étendue.

La disposition de la zone fasciculée et de la médullaire est identique à celles des zones correspondantes du lapin (17).

CHAPITRE III

Surrénales et Glutathion.

C'est de Rey-Pailhade (63) qui, le premier, a attiré l'attention sur l'importance du soufre en biologie dans les phénomènes, liés aux combustions organiques, dans lesquels il se comporte comme un agent oxydo-réducteur.

Reprenant les expériences antérieures de J.-B. Dumas, il établit que les cellules de la levure de bière ont le pouvoir de transformer le soufre en hydrogène sulfuré et que beaucoup de tissus vivants jouissent de cette propriété. Il montra, en outre, que les tissus qui produisent le plus d'hydrogène sulfuré sont ceux qui consomment le plus d'oxygène. Il fut ainsi amené à conclure à l'existence d'un vecteur d'hydrogène qu'il nomma le « philothion ».

Ces travaux furent continués par Gola, Heffter, mais ce sont principalement les recherches d'Hopkins (39, 41) qui ont démontré l'existence et le rôle dans les tissus d'un produit soufré particulier, le glutathion réduit.

Le glutathion a été isolé par F.-G. Hopkins à partir de la levure de bière.

Une macération aqueuse de levure est déféquée successivement par l'acétate de plomb, le sulfate acide de mercure, l'acide phosphotungstique et par le sulfate ou l'hydrate de cuivre.

La liqueur ainsi purifiée contient le glutathion sous

forme de combinaison cuprique, d'où on le libère par action de l'hydrogène sulfuré.

Dans les organismes animaux, certains tissus sont très riches en glutathion, en particulier les capsules surrénales en contiennent une très grande proportion.

Le glutathion se présente sous deux formes : forme réduite et forme oxydée.

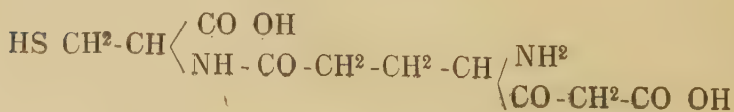
La forme oxydée est préparée en faisant passer dans la solution un courant d'air. On concentre et on précipite par addition d'alcool absolu.

La forme réduite s'obtient par action du zinc et de l'acide sulfurique dilué. La liqueur concentrée à l'abri de l'air est ensuite additionnée d'alcool qui ne dissout que le glutathion réduit. A la solution alcoolique, on ajoute un volume convenable d'éther. Après 3 jours de repos on recueille le glutathion réduit cristallisé.

Constitution chimique et propriétés

Le glutathion a tout d'abord été considéré comme un dipeptide, formé par l'union d'une molécule d'acide glutamique et d'une molécule de cystéine, ainsi qu'il semblait résulter des travaux de Quastel, Stewart et Tunnicliffe.

Depuis, Hopkins a établi (40) que le glutathion était un tripeptide, combinaison d'acide glutamique, de glycine et de cystéine, répondant d'après Kendall, Mac Kensie et Mason (44), à la formule suivante :



Le glutathion oxydé constitue la forme la plus stable. C'est une poudre blanche, non hygroscopique, fondant en se décomposant à 182-185°. Il est caractérisé par un groupe disulfure (— S — S —). Très soluble dans l'eau, il est insoluble dans les solvants organiques. Il est également très soluble dans les liquides des tissus. Son pouvoir rotatoire spécifique est (44) :

(α) 15 Hg j = $-98^{\circ}3$ en solution aqueuse.

Dans les conditions normales, il existe surtout sous la forme réduite, dont le groupe SH contribue au pouvoir réducteur des tissus. Il fixe facilement l'oxygène et passe à l'état de glutathion oxydé. Mais il revient à sa forme initiale sous l'influence des plus faibles réducteurs. Cette réaction réversible (glutathion réduit $\longleftrightarrow$ glutathion oxydé) est très sensible à la réaction du milieu. Peu auto-oxydable de part et d'autre du point neutre, il l'est d'une façon très notable à pH : 7.4, c'est-à-dire au voisinage du pH des tissus vivants. Il s'ensuit que dans les conditions normales de l'organisme, le glutathion existant sous sa forme réduite dans les tissus, joue le rôle d'un transporteur d'oxygène, capable de provoquer les oxydo-réductions intra-cellulaires.

Le glutathion réduit décolore le bleu de méthylène, tandis que la forme disulfure n'a aucune action sur ce corps.

La recherche et le dosage de ce composé ont permis d'établir sa distribution dans les organes vivants et d'apporter des preuves de son importance biologique.

Pour délimiter l'importance réelle du glutathion, de nombreux biologistes ont étudié ses variations dans les divers organes. Les travaux les plus importants à ce

sujet sont dus à Tunnicliffe, à Blanchetière, Fabre et M^{me} Randoin, Binet et Giroud (12, 13, 14, 15, 16).

Nous verrons plus loin que nous avons eu l'occasion, avec M. le Professeur Morel (56), de nous écarter de certains résultats obtenus par une technique différente, par ces deux derniers auteurs (12), au sujet de la répartition du glutathion dans la surrénale.

Ces auteurs ont montré, en particulier, la haute teneur du foie, des reins, des surrénales et du muscle cardiaque en glutathion, résultats que, en ce qui concerne la surrénale, nous avons, sous la direction de M. le Professeur Morel, confirmés.

Puis, les recherches se sont étendues aux variations de ce composé dans les états pathologiques, dans la tuberculose (Delore) (27) et notamment dans le cancer.

Etudiant la teneur en glutathion du sarcome et des tissus normaux, Lecloux, Vivario et Firket (47) notent que les tissus cancéreux contiennent plus de glutathion que les autres tissus de même origine. Ces résultats sont confirmés par les recherches de Vœgtlin et Johnson (68), de B.-E. Holmès (38), de Yaoi et Nakahara (72) et de Bierich et Kosenbohm (11), qui, concluent que la teneur des tissus cancéreux en glutathion est élevée et du même ordre que celles des tissus normaux les plus riches de l'organisme. Toutefois, Chatain, se basant sur une série de dosages de glutathion effectués dans le sang des cancéreux, arrive à cette conclusion que : « le glutathion réduit du sang n'est pas ou du moins très rarement modifié au cours de la néoplasie et que son dosage ne peut extérioriser les modifications que peut

apporter la maladie cancéreuse au métabolisme général. »

Pour Hirsch (34, 35), le glutathion joue un rôle important dans les phénomènes de la croissance en général et dans ceux des croissances néoplastiques en particulier. Il prendrait naissance dans la cortico-surrénale.

Chez les animaux jeunes, il existe une grande quantité de glutathion réduit dans les tissus en croissance et une petite quantité dans le sang. Le glutathion baisse dans les tissus et augmente dans le sang au fur et à mesure de la croissance. Celle-ci s'arrête lorsqu'un équilibre stable paraît atteint.

Hirsch démontre que l'irritation chronique d'un tissu y fait remonter le glutathion réduit et lorsqu'on fait une irritation chronique au goudron, le glutathion remonte à l'endroit irrité et baisse dans le sang par suite de l'intoxication réalisée. Dans ce cas, l'endroit irrité a une haute concentration en glutathion réduit et le sang en contient peu. Le tissu irrité se retrouve dans les mêmes conditions d'oxydo-réduction qu'une cellule jeune et une croissance anarchique se déclare.

Détection-Dosage

Le glutathion doit à son groupe sulfhydryle la propriété de donner une réaction colorée avec le nitroprussiate de soude et de pouvoir être dosé par iodométrie.

Pour la diagnose, mettre dans un petit tube à essai 0 cc. 3 (28) de solution trichloracétique de glutathion et une goutte de solution fraîche à 5 % de nitroprussiate de sodium. Mélanger.

Faire arriver de l'ammoniaque à la surface du mélange

au moyen d'une pipette effilée. Un anneau rouge apparaît au contact de l'ammoniaque (sensibilité : 1 mgr. pour 100 cc.).

Pour le dosage du glutathion dans les tissus, un poids connu de tissu, recueilli immédiatement après la mort de l'animal, est trituré au mortier, rapidement, avec du sable ou de la terre d'infusoire. La pulpe ainsi obtenue est traitée par un poids égal d'acide trichloracétique au 1/10^e (28).

On filtre à la trompe et on traite à nouveau le résidu à deux reprises par la même quantité de liquide. La solution claire finalement obtenue est titrée en employant une burette au 1/100^e de cc. par la solution d'iode centinormale. L'indicateur externe est le nitroprussiate, en liqueur ammoniacale diluée.

Chaque centimètre cube d'iode N/100^e employé correspond à 2 mgr. 5 de glutathion réduit.

En prenant l'empois d'amidon ou le réactif de Tromsдорff comme indicateur, on obtient des résultats trop élevés car l'iode agit en outre sur des substances oxydables, autres que le glutathion, mais non sur l'adrénaline. (*Voir plus bas.*)

Pelrlzweig et Delrue (57) ont indiqué une autre technique, différant légèrement de la précédente :

« On ajoute simplement à la liqueur trichloracétique extractive, employée en quantité de 5 à 15 cc, 2 cc d'une solution à 25 % fraîche et incolore d'iodure de potassium, c'est-à-dire 0 gr. 50 de ce sel, dont le rôle est de dissoudre l'iode ajouté.

« En outre, parce que la disparition de la couleur bleue des solutions contenant un excès d'iode, par l'addition de thiosulfate de soude, est beaucoup plus sen-

sible que l'apparition d'une couleur bleue avec l'iode, il est intéressant d'ajouter un excès connu de solution d'iode et de titrer en retour par le thiosulfate. On peut alors employer des solutions titrées millinormales d'iode et de thiosulfate, ce qui augmente la précision des résultats. »

En nous inspirant de ces différentes modifications, voici la description détaillée du mode opératoire que nous avons suivi :

L'échantillon étant pesé — qu'il s'agisse de la glande totale ou de la corticale, ou de la médullaire — est broyé au mortier, avec de la poudre de verre Pyrex, précédemment lavée à l'oxyde chlorhydrique, puis à l'eau distillée et séchée à l'étuve.

Lorsque le produit présente l'aspect d'une gelée homogène, on ajoute, par petites portions, 10 cc d'une solution d'acide trichloracétique à 10 %. On délaie, puis malaxe soigneusement pendant quelques minutes et on recueille le tout, liquide d'épuisement et glande, dans un tube à centrifuger d'une contenance d'environ 25 à 30 cc. On lave le mortier à deux ou trois reprises avec 10 cc. en tout de sérum pyhsiologique à 9 ‰, on ajoute ce liquide au liquide d'épuisement; on mélange les deux solutions en agitant avec une baguette de verre et on centrifuge à grande vitesse.

La centrifugation prolongée et à grande vitesse permet une bonne sédimentation et on peut ainsi recueillir, presque quantitativement, le liquide surnageant le culot de centrifugation.

Le liquide clair est versé dans un Bécher et on y ajoute successivement :

2 cc d'une solution au quart d'iode de potassium,
5 gouttes d'empois d'amidon,
5 cc de solution d'iode centinormale.

On a soin d'agiter après chaque addition et on fait un dosage en retour, en dosant l'excès d'iode par la solution N/100 de thiosulfate de soude, que l'on laisse tomber goutte à goutte dans le Bécher, à l'aide d'une microburette au 1/100^e de centimètre cube.

La fin de la réaction se perçoit nettement et on a ainsi plus de précision qu'avec la méthode directe que l'on emploie comme indicateur de fin de réaction, l'empois d'amidon ou les touches à la poudre de Tunnicliffe (mélange de nitroprussiate de soude : une partie et de sulfate d'ammonium : quatre parties). Soit n cc la quantité de thiosulfate employée.

Pour augmenter la précision de la méthode, on dose par comparaison avec une solution témoin, car il faut, en effet, tenir compte de l'altération de l'acide trichloracétique, altération rapide, ce qui fait que l'on obtiendrait des résultats trop élevés.

Cette solution témoin se compose ainsi :

Acide trichloracétique au 1/10....	10 cc
Sérum physiologique à 9 ‰.....	10 cc
IK au 1/4.....	2 cc
Empois d'amidon.....	5 gouttes
I N/100.....	5 cc

On dose l'excès d'iode par le thiosulfate N/100^e, soit n' cc. de thiosulfite.

La différence ($n' - n$) cc., multipliée par le coefficient 2.5, donne la quantité de glutathion contenu dans le

liquide d'extraction correspondant au poids total de la prise d'essai.

On ramène le résultat à 100 grammes de produit.

Pour le dosage du glutathion dans les extraits désalbuminés de surrénales de veau, on opère de la même façon.

La prise d'essai est de 2 cc. d'extrait à laquelle on ajoute :

Acide trichloracétique à 40 %.....	2 cc.
Eau distillée.	6 cc.
IK au 1/4.....	2 cc.
I N/100	2 cc.

Le témoin contient :

Acide trichloracétique à 40 %.....	2 cc.
Eau distillée.	8 cc.
IK au 1/4.....	2 cc.
I N/100	2 cc.

En opérant comme précédemment, on obtient la quantité de glutathion contenu dans les 2 cc. de prise d'essai. Connaissant le poids de glande correspondant à ces 2 cc. d'extrait, on en déduit la quantité de glutathion correspondant à 100 grammes de glande.

Il existe d'autres méthodes de dosage du glutathion, basées sur des principes différents, telles :

1° La méthode de Flatow et celle de Mason, basées sur la réduction à froid du ferricyanure en ferrocyanure, suivie du dosage de ce dernier composé, soit par le bleu d'indigo (méthode de Flatow), soit par le bleu de Prusse (méthode de Mason) ;

2° La méthode de Gabbe, dosant le ferricyanure par l'iode.

Plus récemment, B. Braier et A.-D. Marenzi (22) ont appliqué, au dosage du glutathion, la méthode colorimétrique de la cystine, de Folin et Marenzi, modifiée par Marenzi, le sang et les tissus ne contenant pas de cystine ou de cystéine libres, d'après Thompson et Vøgtlin (69). Ils ont tenu compte de ce que le glutathion réduit doit réagir quantitativement (par son groupe SII libre) avec le réactif phosphotungstique.

Le dosage se fait en comparant au colorimètre l'intensité obtenue avec celle que donne, avec le même réactif et dans les mêmes conditions, une solution étalon de cystine. Sachant que un gramme de cystine est contenu dans 2 gr. 537 de glutathion, on en déduit la quantité correspondante de glutathion.

Ce procédé, d'après les auteurs, donne une coloration faible avec l'acide urique du sang du chien. Celui-ci n'a pu être éliminé sans perte de glutathion par l'hydrate de zinc. L'acide trichloracétique n'a aucune action défavorable et, en filtrant à la trompe, on extrait 80 % du liquide.

« Les résultats donnés par la méthode de Gabbe concordent assez bien avec les nôtres : la méthode de Tunnicliffe donne des résultats trop élevés (B. Braier et A.-D. Marenzi, 22). »

Personnellement, nous n'avons pas essayé ce procédé, mais en ce qui concerne le dosage du glutathion dans la surrénale, il serait peut-être prudent de faire des réserves au sujet de l'action possible du réactif phosphotungstique sur l'adrénaline.

**Comparaison entre la méthode de dosage
indirecte de Pelrlzweig & Delrue modifiée
et la méthode directe**

Nous avons voulu nous rendre compte de l'écart qui existe entre les résultats donnés par chacune de ces deux méthodes. Pour cela, on a divisé un liquide d'extraction de glutathion de surrénale de lapins en deux parties rigoureusement égales :

1° Sur une première partie, on a pratiqué le dosage indirect.

Résultats trouvés :

Nombre de centimètres cubes d'iode absorbés: 0 cc 40.

Glutathion pour 100 gr de glande : 1.000 mgr.

2° Sur le restant, on a pratiqué le dosage direct, en employant comme indicateur de fin de réaction, la poudre de Tunnicliffe (carbonate d'ammoniaque et nitroprussiate de soude) et l'empois d'amidon.

Résultats trouvés :

a) Réaction au nitroprussiate :

Nombre de centimètres cubes d'iode absorbés: 0 cc 38.

Teneur en glutathion pour 100 gr. d'organe: 950 mgr.

b) Réaction à l'amidon :

Nombre de centimètres cubes d'iode absorbés: 0 cc 42.

Teneur en glutathion pour 100 gr. d'organe : 1.050 mgr.

On voit qu'il existe entre ces deux méthodes un écart de 5 % en plus ou en moins, selon le réactif indicateur utilisé, et qu'il est exact que, dans la méthode directe, l'empois d'amidon comme indicateur donne des résultats trop élevés.

La méthode par touches successives de Tunnicliffe, ne nous paraît pas très sensible, l'iode donnant avec elle une teinte voisine de celle qu'elle donne avec le glutathion. Quant au procédé qui consisterait à pratiquer la réaction au nitroprussiate dans un tube à essai après chaque addition d'iode, outre le même inconvénient, il aurait encore celui de réduire de plus en plus le volume du liquide de dosage — et partant — la quantité de glutathion à doser. Il faudrait, au moins, pouvoir faire deux dosages successifs approchés, ce qui n'est pas toujours possible.

La technique que nous avons suivie nous paraît bien être la meilleure.

Etude de la teneur en glutathion des glandes surrénales totales de quelques mammifères

A. — Surrénales totales de rats.

Tous les dosages ont été effectués immédiatement après le sacrifice, sur des séries de quatre animaux adultes jeunes, bien portants, choisis aussi semblables les uns aux autres que possible.

Expériences Nos..	1	2	3	4
Rats préparés par injections de tumeurs de souris.....			1.415 mgr. ‰	1.266 mgr. ‰
Rats neutres.	701 mgr. ‰	1.111 mgr. ‰		

B. — Surrénales totales de lapins domestiques.

Ce travail a fait l'objet d'une communication du Professeur Morel, à la Société de Pharmacie de Lyon (56).

Nos déterminations ont été faites sur des animaux jeunes, pesant de 1 à 2 kgs, tous plus ou moins atteints de coccidiose et présentant des signes plus ou moins accentués de dégénérescence graisseuse de leurs surrénales, les uns ayant subi des injections de suspension dans le sérum physiologique de carcinome expérimental de la souris, broyé au mortier, les autres n'ayant subi aucun traitement préalable.

Expériences Nos	1	2	3	4	5
Lapins préparés	1067 mgr. °/°	900 mgr. °/°	1312 mgr. °/°		
Lapins neutres..				966 mgr. °/°	850 mgr. °/°

Des deux expériences précédentes, il semble résulter que la préparation augmenterait la quantité de glutathion contenu dans la capsule surrénale des animaux traités.

C. — Surrénales totales de veaux.

Nos expériences n'ont pu porter que sur des animaux neutres. Ces animaux étaient identiques à ceux que nous avons employés pour nos préparations freinatrices du développement du carcinome expérimental de la souris. (*Voir chapitre II.*)

Extrait préparé selon notre technique habituelle :

Expériences Nos	1	2	3
Teneur en glutathion	511 mgr. °/°	399 mgr. °/°	454 mgr. °/°

Extrait alcool-chlorhydrique préparé selon la méthode de Penau, pour l'extraction de l'insuline (58): 288 mgr. 9 %.

Etude de la répartition du glutathion dans la surrénale de veau

Voici le résultat de nos expériences :

Il s'agit de jeunes animaux en excellent état de santé. Tout produit suspect a été rejeté. Le transport au laboratoire des organes prélevés quelques minutes seulement après l'abatage, s'est effectué dans de la glace.

La dissection a été faite comme pour les préparations d'agents antitumoraux.

Les manipulations ont été aussi rapides que possible et les dosages effectués environ une heure à une heure et demie après le sacrifice de l'animal.

Expériences N ^{os} ..	1	2	3	4
Corticale....	403 mgr. %	508 mgr. %	353 mgr. %	458 mgr. %
Médullaire ..	391 mgr. %	387 mgr. %	352 mgr. %	424 mgr. %

Postérieurement à la communication du Professeur Morel, nous avons dosé le glutathion dans la zone réticulée de la surrénale de veau, toujours selon la même méthode. Voici nos chiffres :

Expériences N ^{os}	1	2	3
Réticulée	411 mgr. 04 %	442 mgr. 80 %	509 mgr. %

« Ces résultats font supposer que la teneur en glutathion des deux zones de la surrénale chez le veau seraient voisi-

nes, presque identiques, dans trois cas sur quatre. » (Communication du professeur A. Morel, déjà citée.)

« Ils ne concordent pas avec les données histo-chimiques publiées par Binet et Giroud (12). »

Ces auteurs ont « eu recours aux techniques microchimiques en utilisant la méthode au nitroprussiate de F.-G. Hopkins, sur des coupes en congélation. Les observations faites sur le cobaye et le chien leur ont montré les points suivants :

« a) La réaction au nitroprussiate est beaucoup plus intense au niveau de cortico-surrénale qu'au niveau de la médullo-surrénale. C'est la zone corticale qui est de beaucoup la plus riche en glutathion ;

« b) Chez le cobaye jeune, c'est la partie la plus interne de la zone corticale, la zone réticulée, qui donne la réaction du glutathion la plus intense. »

Faut-il conclure de ce qui précède que le glutathion existerait dans la médullaire sous une forme non décelable par la réaction histochimique au nitroprussiate, appliquée sur des coupes congelées ?

Action de l'adrénaline sur l'iode

Nous avons voulu savoir si l'adrénaline contenue dans les capsules surrénales ne pouvait pas fausser, par excès, nos résultats en absorbant l'iode pour son propre compte.

On sait, en effet, que la méthode colorimétrique des Professeurs Abelous, Soulié et Toujau (1, 67), employée pour le dosage de l'adrénaline, utilise la réaction colorée résultant de l'action de l'iode sur l'adrénaline.

Sur les indications de M. le Professeur A. Morel, nous avons voulu rechercher si la divergence entre nos résul-

fats et ceux obtenus à l'aide d'une méthode bien différente par MM. Binet et Giroud, n'était pas due uniquement à l'absorption d'iode par l'adrénaline.

L'adrénaline existant en plus grande proportion dans la médullaire que dans la corticale — ainsi que l'ont démontré M. le Professeur Léulier et ses collaborateurs (voir en particulier L. Revol, Thèse de Sciences, ouvrage auquel nous avons fait de nombreux emprunts) (62) — et le glutathion en plus grande proportion dans la corticale que dans la médullaire, d'après Binet et Giroud, l'explication de cette divergence deviendrait aisée.

Pour cela, nous avons préparé deux solutions d'adrénaline dans le sérum physiologique à 9 ‰ à des taux présentant entre eux un écart sensiblement identique à celui qui existe normalement entre le taux de l'adrénaline dans la médullaire et dans la corticale de veau, c'est-à-dire un écart de 1 à 10.

De plus, ces solutions ont été faites à des dilutions telles que 2 cc correspondent respectivement aux teneurs en adrénaline de la corticale ou de la médullaire.

Dans une première série d'expériences, nous avons étudié l'action supposée de l'iode sur l'adrénaline au cours du dosage du glutathion.

A. — A 2 cc d'une solution d'adrénaline, à 0,04 ‰ (teneur de la corticale) nous avons ajouté :

Acide trichloracétique à 40 %..	2 cc
Eau distillée.....	4 cc
Iodure de potassium au 1/4..	2 cc
Iode centinormale.....	2 cc
Empois d'amidon.....	5 gouttes

Quantité de thiosulfite de sodium N/100 employée :
2 cc.

Nous avons fait un témoin contenant :

Acide trichloracétique à 40 %..	2 cc
Eau distillée.....	6 cc
Iodure de potassium au 1/4..	2 cc
Iode N/100.....	2 cc
Empois d'amidon.....	5 gouttes

Quantité de thiosulfite de sodium N/100 : 2 cc.

B. — A 2 cc d'une solution d'adrénaline à 0,40 % (teneur de la médullaire) nous avons ajouté les mêmes produits aux mêmes doses.

Nombre de centimètres cubes de thiosulfite employés :
2 cc.

Et pour le témoin identique au précédent : 2 cc.

On voit que ces chiffres sont identiques.

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons ajouté à deux volumes égaux d'un même extrait de glutathion, à l'un :

2 cc de solution d'adrénaline à 0,04 %.

Et à l'autre :

2 cc d'une solution à 0,40 %.

Nous avons terminé l'opération comme précédemment. Au préalable, on avait dosé la teneur en glutathion de cet extrait. Les résultats se sont montrés en tous points conformes à ceux obtenus plus haut.

Tous ces résultats sont concordants. L'adrénaline n'a pas absorbé d'iode dans nos conditions expérimentales de dosage.

CHAPITRE IV

Prélèvement et dissection des glandes surrénales.

Pour le veau, nous avons prélevé nous-même les surrénales aux abattoirs municipaux de La Mouche. Toutes les glandes paraissant anormales ont été soigneusement rejetées. A ce sujet, il nous a semblé que ces dernières étaient moins fréquentes chez le veau que chez certains animaux, en particulier le mouton (62).

Nous avons opéré sur de jeunes animaux, d'âge et de poids variables, au sujet desquels il est difficile d'obtenir des précisions.

La viande de veau, qui est considérée parfois comme un luxe, rentre en France dans la consommation courante.

Le poids du veau de boucherie varie beaucoup suivant l'âge, le mode d'alimentation et surtout la race (précoce ou non) : 70 à 80 kg pour les veaux de Charente, 85 à 95 pour ceux de Normandie, 15 à 30 pour ceux de Bretagne. La moyenne est de 60 à 65 kg de viande nette (59).

A quel âge abat-on les veaux ?

Les discussions sont nombreuses et les règlements multiples. En Allemagne, Suisse, Autriche : de 14 à 30 jours. En France, de 40 à 60 jours. Autrefois, à Paris, on les abattait à 6 semaines seulement.

En général, on tient peu compte de l'âge, mais plutôt des constatations anatomo-pathologiques : « La graisse entourant les reins et celle du bassin doivent être blanches et en nappe. Les muscles sont fermes et d'un blanc rosé. La moelle des os doit avoir la coloration du beurre frais. Les surfaces articulaires doivent être d'un gris plombé. » (Bascou.)

En pratique, à l'Inspection des viandes on peut refuser un veau de 35 jours et en accepter un de 15 jours, s'il donne les garanties d'hygiène alimentaire requises. En général, l'âge moyen est de 30 à 45 jours (1).

Le prélèvement de la glande gauche est facile. Au contraire, celui de la glande droite — située plus en arrière et plus profondément noyée dans la masse graisseuse péri-vertébrale — est plus malaisé, d'autant plus que l'on est gêné par la masse volumineuse du foie, dont les règlements sanitaires interdisent l'ablation avant la visite des viandes.

Aussi, ayant pu observer expérimentalement que la teneur en glutathion et le pouvoir antitumoral sont les mêmes pour les glandes gauches que pour les glandes droites, nous nous sommes contenté, le plus souvent, de ne prélever que les glandes gauches. Leulier et Revol avaient déjà fait (62) les mêmes constatations, conformes à l'opinion classique, en ce qui concerne les éléments chimiques des surrénales.

La glande était prélevée en taillant largement dans la couche graisseuse périphérique, afin d'éviter l'altération

(1) Nous devons ces renseignements à l'extrême obligeance de notre ami, M. Lacombe, docteur-vétérinaire, que nous remercions très cordialement ici.

des tissus. Le transport au laboratoire avait lieu immédiatement après dans un flacon plongé dans de la glace en cubes.

Chez le lapin et chez le rat, le prélèvement des capsules surrénales ne présente aucune difficulté. On sectionne les intestins que l'on replie vers le bas, et on soulève le foie à l'aide d'une pince pendant que l'on prélève la glande droite. Le seul point délicat est d'éviter l'hémorragie par ouverture des vaisseaux, veine porte en particulier.

Dans nos préparations de glandes de rats, nous avons toujours employé les surrénales entières.

La dissection des capsules surrénales de lapin, que nous avons pratiquée quelquefois, se faisait grâce à une loupe bi-oculaire de Zeiss. On ouvrait la glande sur le statif de l'appareil à l'aide d'un scalpel d'ophtalmologiste. En s'aidant de pinces et d'aiguilles, on arrivait à séparer — avec un peu d'habitude — la corticale et la médullaire assez aisément.

La dissection des glandes de veau comportait deux phases (62) :

1° L'extraction de la surrénale du bloc graisseux et le décollement des tractus entourant la membrane d'enveloppe ;

2° La séparation de la médullaire et de la corticale, après mise à nu de la glande.

La surrénale était tranchée en deux, au rasoir, dans le sens de la plus grande dimension. Ensuite, à l'aide de fins ciseaux, on entaillait dans chaque moitié la limite des deux zones, marquée par un liseré blanchâtre et passant

un scapel sous la médullaire, la dissection se poursuivait par un véritable décollement de cette zone.

Tout ceci s'effectuait avec minutie afin d'éviter toute déchirure et de laisser des portions de médullaire incluses dans la corticale ou inversement.

CHAPITRE V

Extraction d'agents antinéoplasiques à partir des surrénales d'animaux (lapins et rats), neutres et préparés.

I. - Extraits obtenus à partir des surrénales de lapin.

Les meilleurs résultats obtenus nous ont été donnés par des lapins jeunes.

Nous avons employé généralement des animaux neufs, d'un poids variant entre 1.000 gr. et 1.500 gr. Cependant, une de nos expériences a été effectuée avec des lapins pesant respectivement 860, 840 et 830 grammes.

Quoi qu'il en soit, les animaux devaient être exempts de tout parasitisme et, en particulier, de coccidiose, car les sujets parasités nous ont toujours donné des résultats nuls et parfois négatifs.

La coccidiose revêt la forme intestinale ou la forme hépatique et se traduit par un amaigrissement progressif, l'aspect terne des poils, l'enflure du ventre. Les animaux atteints présentent souvent de l'ascite, de la diarrhée et des convulsions. La mort survient en quelques jours chez les jeunes — qui sont surtout exposés — en quelques semaines chez les adultes.

Les coccidies se rencontrent dans le foie et les conduits biliaires du lapin. Lorsqu'elles ont accompli leur dernier stade d'évolution, elles s'enkystent et tombent en grande

partie dans l'intestin où elles sont emportées avec les excréments.

Elles déterminent des symptômes d'anémie pernicieuse accompagnés d'une hypertrophie hépatique : le foie présente à l'autopsie des nodules blanchâtres, allant de la grosseur d'un grain de mil à celle d'une noisette, isolés ou disposés en traînée le long des canaux biliaires. L'ouverture des nodules donne issue à une masse crémeuse contenant divers produits de dégénérescence et de nombreuses coccidies enkystées.

L'affection est due à un sporozoaire : *coccidium cuniculi* (Rivoltà), actuellement *Eimeria cuniculi*.

La recherche du parasite était effectuée sur les excréments selon une technique que nous devons à l'extrême obligeance de M. le Professeur Tapernoux, de l'Ecole Vétérinaire de Lyon.

On triture les excréments avec de l'eau dans un verre à pied et on passe à la gaze. Le liquide obtenu est centrifugé. On fait un étalement du culot de centrifugation sur lame que l'on fixe par la chaleur. Puis on pratique la coloration par la méthode de Ziehl, en opérant exactement comme pour la recherche du bacille tuberculeux. La recherche peut s'effectuer également, et par le même procédé, à partir du contenu des nodules hépatiques.

Les coccidies se présentent sous une forme ovoïde plus ou moins allongée, d'une longueur moyenne de 32 à 40 sur 18 à 20 de large. Parfois, elles présentent, à un pôle, une dépression micropylaire. Leur protoplasme est soit indivis, soit divisé en masses généralement rassemblées vers le centre (sporoblastes), qui donneront des spores et

des corpuscules falciformes. La coque est lisse et à double contour.

Les surrénales de lapin coccidieux présentent une dégénérescence identique à celle que Sokoloff a observée chez les animaux cancéreux.

Elles augmentent de volume. A la section, ces glandes sont diffluentes. La zone corticale, ayant triplé ses dimensions, devient pâle et grasseuse, tandis que la médullaire se trouve réduite à une trace linéaire.

Tout lapin porteur d'une coccidiose, même très légère, présente une tendance plus ou moins marquée à l'hypertrophie de la corticale qui s'infiltré de lipoïdes. Dès la section des glandes, on voit sourdre cette graisse qui tache le papier buvard. Le liquide d'épuisement de la glande broyée se recouvre, à la centrifugation, d'une sorte de crème épaisse. Toutes les fois que nous avons observé cette modification, nous avons pu prévoir l'échec de l'expérience correspondante et nous avons pu constater que l'hypertrophie des surrénales ne comporte pas seulement une perte d'activité, mais encore l'acquisition d'un principe favorable au développement du néoplasme.

Préparation des animaux

La préparation avait pour but de renforcer — ainsi que nous le verrons plus loin — l'action inhibitrice naturelle de la glande surrénale vis-à-vis de la croissance tumorale.

Les lapins étaient préparés par les injections sous-cutanées de tumeur, faites dans la région dorsale.

La tumeur employée était celle-là même contre le développement de laquelle l'extrait surrénalien avait

pour mission de s'opposer, c'est-à-dire le carcinome expérimental de la souris.

Dans cette intention, nous avons préparé de jeunes lapins, chacun avec trois injections répétées trois jours de suite, d'épithélioma, administré aux doses de 0 gr. 30, 0 gr. 30 et 0 gr. 80. La tumeur était finement broyée au mortier et on introduisait le poids déterminé, sous la peau, à l'aide du trocart de Barrel. Le sacrifice avait lieu au bout d'un temps déterminé. L'expérience a montré que passé ce temps limite, l'action allait en diminuant et pouvait devenir nulle ou même favorisante si ce seuil était dépassé. Dans ce cas, on observait dans les surrénales du lapin les mêmes modifications histologiques que chez la souris cancéreuse : augmentation de volume et dégénérescence graisseuse.

Par la suite, nous avons essayé de préparer des lapins par injections de nucléoprotéides retirées de la tumeur.

La tumeur broyée était épuisée par du sérum physiologique à 9 ‰. Après centrifugation, on ajoutait au liquide clair surnageant une suspension d'alumine que l'on laissait agir quelques instants, dix minutes environ. On centrifugeait à nouveau et on précipitait les nucléoprotéides par addition d'acide acétique N/10. Le précipité obtenu par une dernière centrifugation était élué à l'aide d'une solution de bicarbonate de soude à 1 ‰ et dilué avec du sérum physiologique. On l'injectait au lapin, dans la veine marginale de l'oreille. On répétait les injections un nombre de fois déterminé. Ce procédé a été rapidement abandonné, car les résultats obtenus étaient nettement inférieurs à ceux donnés par le premier procédé décrit.

Technique de préparation des extraits

L'extrait était préparé de la façon suivante :

La glande étant pesée, est broyée au mortier avec de la poudre de verre Pyrex, lavée à l'acide chlorhydrique, puis à l'eau distillée et séchée à l'étuve. On obtient ainsi une gelée d'aspect homogène qui est délayée par additions répétées de sérum physiologique.

On recueille le tout, fragments de glande et liquide d'épuisement dans un tube et on centrifuge. Au liquide clair, obtenu après décantation, on ajoutait primitivement quelques gouttes d'acide acétique N/100 jusqu'à l'obtention d'un premier précipité. Par la suite, nous avons remplacé l'acide par quelques gouttes de la suspension d'hydroxyde d'alumine forme C β de Willstätter (71). Après dix minutes de contact, on centrifuge à nouveau. On décante le liquide au sein duquel on détermine la formation d'un précipité de nucléoprotéides par addition d'acide acétique N/50. Le précipité isolé par centrifugation est élué à l'aide d'une solution de bicarbonate de soude à 1 %. On dilue par addition de sérum physiologique.

Technique des injections

Le liquide extractif obtenu était mis en ampoules avec partie égale de glycérol. L'expérience nous a permis de constater que les propriétés de l'extrait ne se conservent pas et qu'il doit être employé immédiatement après sa préparation, ce qui nous obligeait à faire une préparation quotidienne.

L'extrait glycérimé de surrénales préparées se montre

toxique pour la souris lorsqu'on injecte une quantité correspondant à un huitième de surrénale environ. Dans ce cas, les souris injectées présentent très rapidement des accidents aigus : torpeur, hérissément des poils, hématuries, puis paralysie progressive frappant d'abord le train postérieur, puis les pattes antérieures. Souvent, il se produisait des contractions myocloniques des pattes ou de la face. A la phase paralytique succédait rapidement une phase convulsive, suivie de tonisme généralisé et de mort.

Les surrénales de lapins neutres produisaient aussi ces mêmes accidents, mais avec moins de brusquerie et seulement si l'on doublait la dose d'extrait injecté.

MM. F. Arloing, A. Josserand et J. Charachon, qui avaient fait avant nous les mêmes constatations, s'étaient alors demandé s'il ne s'agissait pas là de chocs protéiques et si les freinages tumoraux observés ne ressortissaient pas à des phénomènes de cet ordre.

En réalité, l'augmentation de la dose d'extrait de surrénales neutres, jusqu'à l'obtention d'effets juxta-toxiques, ne donne pas de résultats antinéoplasiques comparables à ceux obtenus — à doses moindres — avec les glandes préparées. L'action antitumorale paraît donc bien distincte d'un choc protéique banal.

MM. F. Arloing, A. Josserand et J. Charachon avaient vainement essayé de dissocier les deux facteurs antinéoplasique et toxique par l'emploi d'extraits chauffés à diverses températures puis fortement centrifugés, ou par adjonction aux extraits de sels calciques ou sodiques, ou par filtration sur bougies Chamberland. Aucune de ces méthodes ne réussit.

Les injections se faisaient, aux souris blanches cancé-

reuses, à raison d'une par jour, poussée dessous la peau du dos, dans le voisinage de la tumeur.

Résultats obtenus

L'expérience a permis de préciser certains points :

Tout d'abord, il est indispensable d'employer des surrenales du type maigre. Avec des surrenales grasses, les résultats ont toujours été négatifs et on a même pu noter l'acquisition d'un principe favorable au développement du néoplasme. La dégénérescence graisseuse peut résulter de causes multiples et diverses, en particulier de causes pathologiques ; nous avons vu plus haut le rôle joué par le parasitisme coccidieux.

Une préparation trop énergique et trop prolongée des animaux, l'âge trop avancé de ces derniers, peuvent également être mis en cause.

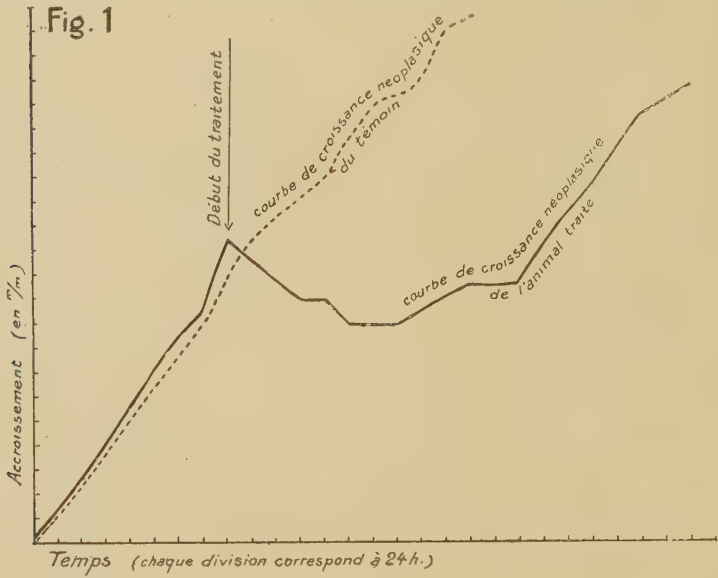
Nous avons remarqué une diminution très rapide du pouvoir inhibiteur des extraits en rapport avec le vieillissement. D'où la nécessité de faire des préparations journalières.

L'adjonction de glycérol paraît jouer un rôle utile, les extraits additionnés de glycérine étant plus actifs que ceux qui ne le sont pas.

Les résultats obtenus sont variables, généralement bons. Si la préparation des animaux semble augmenter la toxicité des extraits, elle augmente aussi leur pouvoir antinéoplasique. En effet, les extraits de glandes préparées sont à dose moindre — et bien que plus toxiques — plus actifs que ceux de glandes neutres.

Le premier précipité acide produit une action légère et transitoire. Seul le second précipité se montre efficace.

Voici à ce sujet deux graphiques, choisis parmi les plus suggestifs, montrant, dans le cas qui nous intéresse,



l'allure des résultats obtenus (fig. 1 et 2). On y voit que la croissance néoplasique du témoin est nettement supérieure à celle qui est observée sur l'animal traité par l'extrait de surrénale d'animaux préparés, lequel est lui-même plus actif que celui d'animaux neutres.

Sous l'influence du traitement, les tumeurs prennent une structure histologique fibreuse et sont dures au toucher (1).

II. - Extraits obtenus à partir des surrénales de rat.

Chez le rat, nous n'avons pas observé de parasitisme et les surrénales offrent toujours le même aspect. Néanmoins, avec cet animal, nous n'avons pas obtenu les résultats favorables que l'absence de parasitisme et la constance du type histologique pouvaient nous faire espérer.

Pour la préparation des animaux, l'obtention des extraits, nous avons suivi les mêmes techniques que celles que nous avons décrites pour le lapin. Les injections se faisaient également comme chez le lapin.

Résultats obtenus

A ne considérer que les accroissements, on serait tenté d'affirmer l'efficacité du traitement.

En effet, les accroissements ont été de : 1 pour les souris témoins qui n'ont reçu que des injections de l'excipient (bicarbonate de soude à 1 % et glycérol) ; 0,56 pour les souris injectées avec les extraits de surré-

(1) Nous devons ces graphiques au talent de M. Bonnet, notre excellent ami, que nous remercions très cordialement.

nales de rats préparés et 0,61 pour celles traitées par les extraits de rats neutres.

Mais en considérant les poids des tumeurs prélevées après sacrifice des animaux, on aboutit à une conclusion bien différente. En effet, voici les chiffres obtenus :

Poids total des tumeurs des 4 témoins : 3 gr. 73.

Poids total des tumeurs de 4 souris correspondant aux rats préparés : 5 gr. 50.

Poids total des tumeurs des 4 souris correspondant aux rats neutres : 3 gr. 66.

L'examen histologique n'a pas été fait, mais l'aspect macroscopique et tactile n'est pas modifié.

CHAPITRE VI

Extraction d'agents antinéoplasiques à partir des surrénales de veaux normaux.

Les difficultés tenant à la grande variabilité chez le lapin, de l'histologie des surrénales qui présentent, ainsi que nous l'avons déjà vu, sous l'influence d'un parasitisme fréquent — pour ne pas dire constant — une dégénérescence graisseuse plus ou moins marquée, d'une part, et d'autre part, l'absence de test de la préparation optima des animaux par les injections de tumeur broyée, qui risque d'éveiller dans les surrénales, la formation de propriétés favorisantes vis-à-vis du développement des tumeurs, ont amené MM. F. Arloing, A. Morel et A. Josserand avec leurs collaborateurs (9) à choisir un animal neutre et chez lequel le parasitisme soit absent.

Sur leurs directives, nous nous sommes adressé au veau, chez lequel le parasitisme n'est pas très fréquent et, en tout cas, dans les surrénales duquel nous n'avons que très rarement observé une infiltration graisseuse.

Les surrénales provenaient d'animaux répondant aux conditions indiquées plus haut (voir prélèvement et dissection des glandes, Chapitre IV).

Technique et préparation des extraits

Des extraits ont été préparés à partir des différentes parties de la glande : zone corticale, zone réticulée, zone

médullaire. Le mode opératoire était identique quelle que soit la portion considérée.

Après de nombreux tâtonnements, nous nous sommes arrêté à la technique suivante :

La portion d'organe était broyée au mortier avec de la poudre de verre Pyrex, lavée au préalable à l'acide chlorhydrique, puis à l'eau distillée et séchée. On délayait la pâte obtenue avec du sérum physiologique à 9 ‰ ajouté peu à peu, jusqu'à l'obtention d'un liquide extractif d'aspect louche, que l'on débarrassait par centrifugation des débris de glande et des éléments insolubles. Ce liquide était soumis ensuite à des fractionnements.

Traité d'abord par une quantité d'acide acétique N/10 ou bien de suspension d'hydroxyde d'alumine forme C β , de Willstätter (71), dont 10 cc correspondent à 0 gr. 16 d'alumine, égale aux 2/3 de la quantité nécessaire pour en précipiter la totalité des protides précipitables par acidification à l'acide acétique, ce liquide donnait, après centrifugation, un liquide clair.

Ce dernier était additionné de la quantité d'acide acétique N/10 nécessaire pour obtenir un pH de 4. On obtenait ainsi un second précipité qui était élué par addition de bicarbonate de soude en solution aqueuse au 1/100^e. On ajoutait alors du sérum physiologique à 9 ‰, à raison de deux volumes pour un volume du liquide d'éluion.

On centrifugeait à nouveau. Le liquide obtenu était mis en tubes stériles, bouchés, conservés à la glacière.

Technique des injections

Au moment de l'injection à la souris, l'extract était ad-

ditionné, d'un volume égal au sien, de glycérol pur, stérilisé.

Les injections se faisaient, à la souris blanche, comme pour les extraits de lapin ou de rat. On déterminait, pour chaque préparation, la dose mortelle pour la souris et on injectait aux animaux à traiter une dose inférieure à cette dernière, comme pour le lapin et le rat.

Résultats obtenus

Comme pour le lapin et le rat, seul le second précipité acide de glande totale de corticale, de médullaire ou de réticulée, se montre actif.

Les résultats sont néanmoins variables, généralement favorables mais moins nets et moins prononcés que ceux obtenus à partir des surrénales de lapin.

Toutefois, il est intéressant de noter que les surrénales d'un animal de boucherie, c'est-à-dire d'un animal de consommation courante — tel que le veau — possèdent, sans préparation aucune, une action inhibitrice vis-à-vis des croissances néoplasiques.

Un essai, fait en ajoutant, au moment de l'injection, d'une préparation de surrénales, 1/4 cc d'une solution de gluconate de calcium au 1/10^e, a permis de constater un ralentissement net de la marche de la tumeur qui a pris une allure fibroïde.

Enfin, de toutes les préparations, celles qui sont faites à partir de la zone réticulée se montrent les plus actives.

Voici, à titre d'exemple, la citation des résultats obtenus par MM. F. Arloing, A. Morel, A. Josserand et A. Badinand, au cours d'une expérience où les pro-

priétés antitumorales de l'extrait de réticulée de veau normal, préparé par une technique analogue à celle que nous venons d'indiquer, ont été mises en évidence (9) :

« Nous avons fait quatre expériences pour étudier le mode d'action du liquide extractif. Dans les trois premières, nous avons obtenu une indication nette de l'existence dans notre extrait d'un pouvoir freinateur du développement des greffes de tumeurs en pleine évolution. Mais ce pouvoir était faible vis-à-vis de certaines d'entre elles, lorsque ces tumeurs étaient déjà très évoluées et atteignaient un diamètre de 6 à 8 mm. au moment où l'on instituait les premières injections d'extrait. La dernière expérience rapportée ici donna des résultats plus nets, ayant systématiquement commencé nos injections à un stade moins avancé de l'évolution des tumeurs.

« Dans cette expérience, 60 souris blanches reçurent chacune, au moyen du trocart de Borrel, un greffon d'épithélioma expérimental aussi unique que possible, de minimas dimensions en nous efforçant d'éviter que ce greffon ne s'éparpille pas et qu'il crée une greffe unique. Au 9^e jour après l'inoculation, on sélectionna 16 souris porteuses de tumeurs dont le volume apprécié à travers la peau atteignait un grain de plomb de chasse n^o 4. Huit d'entre elles furent traitées, huit servirent de témoins, ces dernières recevant chaque jour, ainsi que les traitées, la même dose d'excipient (solution de bicarbonate de soude plus sérum physiologique et glycérol). Après une semaine de traitement, les animaux furent sacrifiés. Les tumeurs des souris traitées (que nous allons du reste étudier histologiquement) se différenciaient par une dureté plus grande qui rappelle la modi-

fication fibreuse que nous avons observée plusieurs fois sur des tumeurs freinées par des produits d'origine surrénalienne après préparation du lapin par injection de tumeur. »

Et voici les conclusions auxquelles les auteurs ont abouti :

« En résumé, par des opérations d'absorption et d'élu-tion, on peut mettre en évidence dans les extraits de surrénales de veau normal, des propriétés freinatrices de l'épithélioma expérimental de la souris blanche. Ces propriétés s'observent surtout :

« 1° Si l'on choisit, pour faire les extraits, des glandes aussi fraîches que possible, présentant en conséquence un aspect franchement rouge ;

« 2° Si l'on s'adresse à la zone réticulée ;

« 3° Si l'on recherche l'action sur des tumeurs qui, bien qu'en évolution très active, n'ont pas atteint lors du début du traitement antitumoral de trop grandes dimensions ;

« 4° Il importe également, pour observer ces propriétés, que la tumeur résultant de la greffe ne se subdivise pas en îlots secondaires qui se développent parfois avec un certain retard, car ces îlots ne paraissent pas être modifiés par le traitement. »

Role du glutathion de la cortico-surrénale, d'après Hirsch, dans la croissance néoplasique

Nous avons vu (*voir Introduction*) que Hirsch, au cours de ses recherches, a obtenu un ralentissement dans le développement des tumeurs, par l'emploi de

glutathion de corticale de veau, injecté avec du fer colloïdal.

Pour essayer de contrôler cette prétendue activité antitumorale du glutathion, nous avons injecté à des souris porteuses de tumeurs, des préparations riches en glutathion faites à partir de surrénales de veau.

La méthode de préparation que nous avons employée pour obtenir du glutathion purifié a été copiée sur celle que Penau (58) a mise au point pour la préparation de l'insuline, corps de constitution chimique peptidique comme celle du glutathion.

Penau utilise, pour l'extraction, de l'alcool chlorhydrique N/10 à froid, d'un degré alcoolique tel qu'après épuisement de la glande broyée, le titre alcoolique atteigne 60° environ.

Le liquide obtenu est concentré dans le vide à une température inférieure à 40° C. Par suite de l'évaporation de l'alcool et après refroidissement, les matières grasses surnagent. On s'en débarrasse par différents procédés.

Penau ajoute une petite quantité de chloroforme qui détermine en douze heures la floculation des matières grasses. On siphonne le liquide.

La solution dégraissée est portée par addition d'alcool absolu à un titre d'environ 80°. Après douze heures de contact à la glacière, on filtre pour éliminer les matières protéiques. On ajoute, au filtrat alcoolique, deux fois son volume d'alcool absolu et après vingt-quatre heures de contact à la glacière, on obtient un précipité qui renferme l'insuline que l'on lave à l'alcool absolu et à l'éther.

Notre mode opératoire a été le suivant :

On délaie les cortico-surrénales, broyées avec de la poudre de verre, par de l'alcool chlorhydrique (alcool à 95° additionné de $\frac{1}{2}$ % en volume d'acide chlorhydrique pur, concentré), puis on épuise cette pâte par de l'alcool à 60° contenant 1 % en volume d'acide chlorhydrique. On laisse en contact pendant une heure en agitant fréquemment, après quoi on centrifugé. Le liquide clair obtenu est mis dans une cloche à vide sulfurique, située dans une chambre noire.

Après deux jours de repos, le liquide concentré est devenu visqueux. Il a une odeur de graisse et présente des dépôts brunâtres.

On recueille ce liquide dans un tube et on le centrifuge. Au liquide clair obtenu, on ajoute quelques centimètres cubes de chloroforme. On termine l'opération comme dans la méthode de Penau, en évaporant toujours l'alcool à froid dans le vide sulfurique, à l'obscurité et en évitant soigneusement la dessiccation totale. L'extrait repris par du sérum physiologique contenait 288 mgr. 9 % de glutathion.

L'injection à la souris cancéreuse de l'extrait obtenu n'a que faiblement entravé le développement néoplasique. Le même, associé à une préparation de cortico-surrénale, a donné des résultats encore moins marqués.

CONCLUSIONS

Les essais expérimentaux rapportés dans ce travail, et auxquels nous avons participé, ont pour principaux résultats :

1° De confirmer, à la suite de leur mise en évidence par MM. F. Arloing, A. Josserand et Charachon, l'existence, dans les capsules surrénales, de propriétés antitumorales vis-à-vis du développement de l'épithélioma de la mamelle greffé chez la souris blanche ;

2° De réaliser, grâce au procédé utilisé pour la préparation des substances extractives, une séparation entre ces propriétés antitumorales et les actions toxiques, dont la présence s'opposait à leur étude.

Mais cette séparation physico-chimique n'a pu être que partielle.

Les propriétés antitumorales, dans le mécanisme desquelles il n'a pas été possible d'écarter complètement le choc colloïdal, peuvent être rattachées à la présence dans les extraits surrénaux, de substances colloïdales, précipitables par acidification à pH voisin de 4. Ces substances, dont la proportion est relativement faible, une fois éluées dans un sérum physiologique légèrement alcalinisé, ré-

sistent à une centrifugation de 4.000 tours à la minute et manifestent leur action freinatrice surtout en présence de glycérol, ajouté à l'excipient utilisé pour leur injection sous-cutanée.

Le Doyen de la Faculté,

JEAN LÉPINE.

Le Président de la Thèse,

ALBERT MOREL.

Vu et permis d'imprimer

Lyon, le 7 juin 1932.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,

Pour le Recteur et par délégation :

Le Vice-Président du Conseil de l'Université

KLEINCLAUSZ

BIBLIOGRAPHIE

1. J.-E. ABELOUS, A. SOULIÉ et G. TOUJAU. — *Dosage colorimétrique par l'iode sur l'adrénaline*, S.B., 1905, 57-301.
2. Fernand ARLOING, A. JOSSEMAND et J. CHARACHON. — *Recherches sur l'action du corps thyroïde du lapin normal ou préparé sur l'évolution de l'épithélioma expérimental de la souris blanche*, C.R. de la Soc. de Biol., 18 février 1929, 100-665.
3. Fernand ARLOING, A. JOSSEMAND et J. CHARACHON. — *Modifications évolutives de l'épithélioma expérimental de la souris blanche par greffes de surrénales provenant de lapins préparés avec ce même épithélioma*, C.R. de la Soc. de Biol., 18 mars 1929, 100-1.035.
4. Fernand ARLOING, A. JOSSEMAND et J. CHARACHON. — *Modifications évolutives de l'épithélioma expérimental de la souris blanche par injection d'extraits glycélinés de surrénales provenant de lapins préparés avec ce même épithélioma*, C.R. de la Soc. de Biol., 8 juillet 1929, 101-1.140.
5. Fernand ARLOING, A. JOSSEMAND et J. CHARACHON. — *Cortico-surrénale et cancer expérimental*, C.R. de l'Académie de Médecine, 21 janvier 1930.
6. Fernand ARLOING, A. JOSSEMAND et J. CHARACHON. — *Association d'un sel de fer aux extraits de capsules surrénales préparées dans le traitement du cancer expérimental de la souris*, C.R. de la Soc. de Biol. de Lyon, 17 mars 1930.
7. Fernand ARLOING, A. MOREL, A. JOSSEMAND et J. CHARACHON. — *Etude de l'action des extraits de surrénales normales ou préparées sur l'épithélioma expérimental de la souris*, Congrès International de Microbiologie, Paris, 20-25 juillet 1930.
8. F. ARLOING, A. JOSSEMAND et J. CHARACHON. — *Recherches sur le traitement du cancer expérimental de la souris blanche par la cortico-surrénale des animaux préparés contre ce néoplasme*, Essais cliniques, C.R. de la Soc. de Pathologie comparée, séance du 8 avril 1930.
9. F. ARLOING, A. JOSSEMAND et A. BADINAND. — C.R. de la Soc. Biol., n° 2, t. XIX, 1932, p. 101.
10. LÉON BERNARD. — *In Elements d'anatomie et de physiologie médicales*, Landouzy et L. Bernard, 2^e édition.

11. BIERICH, KOSENBOHN et KALLE. — *Sur la teneur des tissus normaux et cancéreux en acide lactique, cytochrome et glutathion.* (Eit physiol. chem. 1927).
12. BINET et A. GIROUD. — *Glandes surrénales et glutathion. Sur la répartition du glutathion dans la surrénale.* Soc. Biol., 1928, 988-434.
13. BLANCHETIÈRE et BINET. — *Influence du régime sur la teneur en glutathion réduit des tissus du chien.* C.R. Soc. Biol. 1926.
14. BLANCHETIÈRE et BINET. — *Sur la teneur en glutathion des divers organes du chien.* C.R. Biol. 1926.
15. BLANCHETIÈRE et BINET. — *La teneur en glutathion réduit de quelques glandes de chien.* C.R. Soc. Biol. 1926.
16. BLANCHETIÈRE et MELON. — C.R. Soc. Biol. 1927, t. II.
17. S. BONNAMOUR. — *Etude histologique des phénomènes de sécrétion de la capsule surrénale chez les mammifères.* Thèse de médecine, Lyon 1905.
18. BORIS SOKOLOFF. — *Rôle du cortex de la surrénale dans le développement du cancer.* C.R. de la Soc. de Biol., 1929, 101-264.
19. BORIS SOKOLOFF. — *L'extrait de surrénale régulateur du métabolisme ferrique.* C.R. de la Soc. de Biol. de Paris, 20 juillet 1929.
20. BORIS SOKOLOFF. — *La liquéfaction des tumeurs malignes et le métabolisme du fer.* C.R. de la Soc. de Biol., 15 novembre 1929, 491.
21. BORIS SOKOLOFF. — *Journ. Amer. Med. Assoc.*, 1930, 94-359.
22. BRAIER et A.-D. MARENZI. — *Dosage colorimétrique du glutathion du sang et des tissus.* C.R. Soc. Biol., t. CIX, n° 4-5/3/32.
23. H. BULLIARD et Ch. CHAMPY. — *Histologie*, 3^e édition.
24. Ch. CHAMPY. — *Manuel d'embryologie*, 2^e édition.
25. CHATAIN. — *Métabolisme des corps azotés et des hydrates de carbone chez les néoplasiques. Glutathion du sang.* Thèse de pharmacie, Lyon 1930.
26. COFFEY et HUMBER. — *Journ. Amer. Med. Assoc.*, 1930, 94-359.
27. DELORE. — *Glutathion réduit des organes du cobaye tuberculeux.* In thèse de médecine, Lyon 1928.
28. DENIGES, CHELLE et LABAT. — *Précis de chimie analytique.* Bibliothèque de l'étudiant en pharmacie, t. I, page 739.
29. J. FLAKS. — *Glandes endocrines et croissance des tumeurs.* Zeitschrift für Krebsforschung, 1929, 30-145.
30. E. FORGUE. — *Précis de pathologie externe*, 8^e édition, t. I, p. 421 et suiv.

31. GAETANI. — *Contribution à l'étude de la provocation et de la nature du pouvoir antinéoplasique*. Tumori-Milan 1930. 2^e série 4-334-349.
32. Pierre GIRARD, Edouard PEYRE et Hélène BOURSAUS. — *Différenciation par leur fonction antigène des tissus normaux et du tissu néoplasique chez le rat*. C.R. Soc. Biol., 2 mai 1931.
33. HANS AULER et W. RUBENOW. — *Weitere Untersuchungen über die Beziehung zwischen Nebennieren und Geschwulstwachstum*. Zeitschr. f. Krebsforschung. 1930, 33-292.
34. R. HIRSCH. — *Recherches sur les mécanismes généraux de la croissance et sur ceux de la croissance des néoplasmes*. C.R. Acad. Méd., 2 décembre 1930.
35. R. HIRSCH. — *Recherches sur l'étiologie cancéreuse et essais de thérapie*. C.R. Acad. Méd. 23 décembre 1930.
36. R. HIRSCH. — *Recherches sur l'étiologie du cancer*. Bull. Acad. Méd., 10 décembre 1930, 3^e série, t. CIV.
37. R. HIRSCH. — *Recherches sur l'étiologie du cancer*. Bull. Acad. Méd., 23 décembre 1930, 3^e série, t. CIV.
38. B.-E. HOLMES. — *Mécanisme oxydant des tissus néoplasiques*.
39. HOPKINS. — *Bioc. Journ.*, p. 286, 1921; p. 787, 1925.
40. HOPKINS et DIXON. — *On glutathione. A thermostable oxydation, reduction sustem.*, Journ. Biol. Chem., p. 507, 1922.
41. HOPKINS. — *Journ. Biol.*, 1929, 84-269.
42. HOPPE-SEYLER. — *Physiol. und pathol. chem. analyse*, p. 512.
43. KANEMATSU-SUGIURA. — *The influence of extraits of suprarenal cortex on the growth of carcinome sarcoma und melanoma in animals*. Journ. Cancer Res. 1931, 15-657.
44. KENDALL ME. KENZIE AND MASON. — *A study of glutathione*. Journ. Biol. Chem. 1929, 84-657.
45. KENNEWAY AND HIEGER. — *Biochem. Journ.*, t. XXI, 1927.
46. N.-O. LACLAU. — *La croissance des tumeurs chez les rats blancs privés de capsules surrénales*. Soc. Biol. Buenos-Aires, 6 novembre 1930, in C.R. Soc. Biol. 1931, 106-116.
47. LECLOUX, VIVARIO et FIRKET. — *Teneur en glutathion du sarcome et des tissus normaux*. C.R. Soc. Biol. 1927.
48. J. MAISIN. — *Organothérapie du cancer expérimental par voie buccale. Prophylaxie et thérapeutique*. C.R. Soc. Biol. 1931, 107-21-916.
49. J. MAISIN, Y. POURBAIX et P. RICARD. — *Essais d'organothérapie du cancer par voie sous-cutanée*. C.R. Soc. Biol. 1931, 107-21-918.
50. P. MENDELEEFF. — *Nouvelles méthodes d'extraction de substances actives et inhibitrices du sarcome S 37 de souris*. C.R. Soc. Biol., 1931, 107-16-245.

51. P. MENDELEEFF. — *Quelques propriétés physico-chimiques des substances actives et inhibitrices du sarcome de souris S 37.* C.R. Biol. 1931, 107-21-899.
52. P. MENDELEEFF. — *Nouveau procédé d'extraction de substances spécifiques du sarcome de souris in vitro.* C.R. Soc. Biol. 1931, 107-901.
53. P. MENDELEEFF. — *Recherches des agents actifs et inhibiteurs dans des tissus normaux.* C.R. Soc. Biol. 1931, 107-25-897.
54. P. MENDELEEFF. — *Extraction de la substance active et inhibitrice du sarcome de cobaye in vitro.* C.R. Soc. Biol. 1931, 107-16-239.
55. P. MENDELEEFF. — *Les agents actifs et inhibiteurs du sarcome S 37 de souris.* C.R. Soc. Biol. 1931, 107-16-242.
56. A. MOREL. — *Communication à la Société de pharmacie de Lyon.* Bull. pharm. de l'Est, avril 1931.
57. PELRLZWEIG et DELRUE. — *Biochem. Jour.* 1927, t. 21, p. 1.416.
58. PENAU. — *Préparation de l'insuline.* B.S. c. B. 1926, 8, p. 393.
59. MAURICE PIETTRE. — *Inspection des viandes*, t. I.
60. A. POLICARD. — *Précis d'histologie physiologique*, 2^e édition.
61. A. POLICARD. — *Précis d'histologie physiologique*, 2^e édition.
62. L. REVOL. — *Pharm. Contribution à l'étude biochimique des glandes surrénales de quelques mammifères. Etude comparée des zones corticale et médullaire.* Thèse de sciences, Lyon 1931.
63. REY-PAILHADE. — *Sur un corps d'origine organique hydrogénant le soufre à froid.* C.R. Acad. sciences 1888.
64. ROFFO. — *Bulletin de l'Institut de médéc. expérim. de Buenos-Aires*, décembre 1930.
65. RUBENS-DUVAL. — *Aperçu sur les résultats de la protéino-thérapie spécifique des cancers.* Assoc. française pour l'Etude du cancer, 16 mars 1931.
66. SHIGEMITSU-ITAMI et Ellice ME DONALD. — *Science*, 31 octobre 1930, 72; 1870, 460-461. (*Adrenal Cortex extract and cancer*).
67. TOUJAU. — *Recherches expérimentales sur l'adrénaline (Dosage-formation, origine-destruction).* Thèse méd. Toulouse 1905.
68. VOEGTLIN et JOHNSON. — *On the preparation and properties of pure glutathione.* Journ. Biol. Chem. 1927.
69. VOEGTLIN and THOMPSON. — 1926, Journ. Biol. Chem., t. LXX.
70. William-H. WIGLUM. — *The suprarenal and cortex tumor.* Journ. Amer. Med. Assoc. 1930, 95-473.
71. WILLSTATTER. — *Berichte* 1925, t. LVIII, p. 2.448.
72. YAOI et NAKAHARA. — *La teneur en glutathion des cellules malignes (Gann. 1926).*

OUVRAGES D'ENSEMBLE

- BARRAL Et. — *Précis d'analyse chimique biologique générale*, Bail-
lière, Paris 1925.
- LÉON BERNARD. — *Eléments d'anatomie et de physiologie médicales*,
Landouzy et L. Bernard, 2^e édition.
- H. BULLIARD et Ch. CHAMPY. — *Histologie*, 3^e édition.
- Ch. CHAMPY. — *Manuel d'embryologie*, 2^e édition.
- DA COSTA. — *L'appareil surrénal*, P.M., 8 sept. 1923.
- DENIGES, CHELLE & LABAT. — *Précis de chimie analytique*, Bibliothè-
que de l'étudiant en pharmacie, t. I, p. 739.
- G. FLORENCE & J. ENSELME. — *Les problèmes de la biochimie mo-
derne*, Doin et C^{ie}, 1932.
- HUGOUNENCQ L. — *Précis de chimie physiologique et pathologique*,
Doin, Paris 1925.
- LAMBLING E. — *Précis de biochimie*, Masson, Paris 1925.
- LEULIER A. — *Précis de pharmacie chimique*, Maloine, Paris 1929.
- A. MOREL. — *Précis de technique de laboratoire*, Doin, Paris 1904.
- PETIT A. — *Recherches sur les surrénales*, Thèse de sciences.
- POIRIER. — *Traité d'anatomie*, 1892-1904, 7 vol., t. v: glandes sur-
rénales.
- POLICARD. — *Précis d'histologie physiologique*, Doin, Paris 1928.
- RENAUT. — *Traité d'histologie*, 2 vol., Bataille, Paris 1893-1899.
- SCHAFER Ed.-Sh. — *Les glandes à sécrétion interne. Physiologie et
physiopathologie des glandes endocrines*, traduit et annoté
par Guy Laroche et Richard, Doin, Paris 1921.
-

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.	13
INTRODUCTION.	17

CHAPITRE PREMIER

Nature de la tumeur choisie pour apprécier l'action des agents frénateurs extraits des capsules surrénales...	29
Technique suivie pour la greffe de la souris.....	31
Mensuration des tumeurs.....	32

CHAPITRE II

Morphologie et structure histologique des capsules surrénales d'animaux normaux.....	35
Surrénales de veau.....	40
Surrénales de lapin.....	41
Surrénales de rats.....	42

CHAPITRE III

Surrénales et glutathion.....	43
Détection - dosage.....	47
Etude de la répartition du glutathion dans la surrénale de veau	56
Action de l'adrénaline sur l'iode.....	57

CHAPITRE IV

Prélèvement et dissection des glandes surrénales.....	61
---	----

CHAPITRE V

Extraction d'agents antinéoplasiques à partir des sur- rénales d'animaux neutres et préparés.....	65
Extraits obtenus à partir des surrénales de lapin.....	65
Extraits obtenus à partir des surrénales de rat.....	73

CHAPITRE VI

Extractions d'agents antinéoplasiques à partir des sur- rénales de veaux normaux.....	75
Rôle du glutathion de la cortico - surrénale, d'après Hirsch, dans la croissance néoplasique.....	79
CONCLUSIONS.....	83
BIBLIOGRAPHIE.....	85
OUVRAGES D'ENSEMBLE.....	89

